



UNICAMP



Faculdade de Odontologia de Piracicaba
UNICAMP

DANILA M. ZILIO

Trabalho apresentado à disciplina de
Educação para Saúde, da Faculdade
de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP,
para obtenção do título de Dentista.

TCC 097

PIRACICABA - 2002

Universidade Estadual de Campinas

Faculdade de Odontologia de Piracicaba

Avaliação das alterações do pH da pasta de hidróxido
de cálcio em veículo aquoso, da clorexidina gel e da
associação de ambos em função do tempo e da
presença de dentina

1

Aluna: Danila Molina Zilio

Orientador: Prof. Dr. Caio Cezar Randi Ferraz.

¹ Projeto de Pesquisa financiado pela FAPESP: 02/02535-4

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA

Resumo

A medicação intracanal tem como principais objetivos eliminar os microrganismos que tenham permanecido viáveis após o preparo químico-mecânico e, impedir a recontaminação dos canais radiculares entre as sessões de atendimento. Além disso, outras circunstâncias nas quais a utilização da medicação intracanal também é indicada são os casos de exsudação excessiva, reabsorções radiculares, traumas e ausência de tempo para concluir o tratamento. Dentre os medicamentos intracanaís pode-se ressaltar as pastas à base de hidróxido de cálcio. O alto pH do hidróxido de cálcio é um dos principais fatores que atribui à essas pastas propriedades antimicrobianas e biológicas. No entanto, estudos têm demonstrado o efeito tampão da dentina, prejudicando, dessa forma, a elevação do pH. A clorexidina gel tem demonstrado bons resultados tanto como irrigante quanto como medicação intracanal, por possuir amplo espectro antimicrobiano, alta substantividade e ausência de toxicidade. Entretanto, poucos trabalhos na literatura avaliam a associação do hidróxido de cálcio P.A. e da clorexidina gel 2%. Na tentativa de aliar as propriedades biológicas do hidróxido de cálcio às propriedades antimicrobianas da clorexidina gel, verificando se não há perda de propriedades importantes com a associação destas substâncias, como por exemplo o alto pH do hidróxido de cálcio. Desta forma, esse estudo tem por objetivo avaliar “in vitro” as alterações do pH das pastas à base de hidróxido de cálcio, da clorexidina gel 2% e associação dos mesmos em função do tempo, na presença de pó de dentina.

1. Introdução e Revisão de literatura

Quimicamente, o hidróxido de cálcio pode ser definido como uma base forte obtida através da hidratação do óxido de cálcio: um pó branco e inodoro, formado pela calcinação do carbonato de cálcio. (ESTRELA *et al.*, 1999). Na prática odontológica, foi introduzido por HERMMAN em 1930, para preservação da vitalidade pulpar. Contudo, constatou-se que ao ser colocado diretamente em contato com o tecido conjuntivo produzia uma zona de necrose (HOLLAND *et al.*, 1971).

De acordo com alguns estudos, (HOLLAND, 1983; HOLLAND & SOUZA, 1985), o hidróxido de cálcio deve ser associado a outras substâncias químicas ou veículos para ser utilizado como medicamento intracanal.

O hidróxido de cálcio quando empregado como medicamento intracanal não se limita à descontaminação do canal radicular (BYSTRÖM *et al.*, 1985 e SJÖGREN *et al.*, 1990). Sua ação abrange a contenção da dor pós-operatória (TROPE *et al.*, 1990; CHONG & PITT FORD, 1992) e, a eliminação de exsudação excessiva dos canais radiculares (HEITHERSAY 1975; BYSTRÖM *et al.* 1985; SJÖGREN *et al.*, 1990). Atua ainda como barreira física à recontaminação dos canais radiculares e é eficaz na prevenção e/ou contenção de reabsorções osteo-cemento-dentina, induzindo a reposição de tecidos mineralizados (ESBERAD *et al.*, 1998; ESBERARD *et al.*, 1996; ESTRELA *et al.*, 1995; GOMES, 1996; LEONARDO, *et al.*, 1992; LEONARDO, 1993; BINNIE & MITCHEL, 1973 e HOLLAND, 1971).

Ao ser dissolvido em água, o hidróxido de cálcio dissocia-se em cátions cálcio (Ca^{++}) e ânions hidroxila (OH). O íon hidroxila é o responsável pela alcalinização do meio, proporcionando ambiente favorável ao reparo e à calcificação (STAEHLE *et al.* 1989; TRONSTAD *et al.*, 1981; CHONG & PITT FORD, 1992).

Ao ser colocado diretamente sobre o tecido conjuntivo, o hidróxido de cálcio promove uma zona de necrose (HOLLAND *et al.*, 1971; ESTRELA *et al.*, 1995b), havendo formação de tecido mineralizado após 7 a 10 dias (HOLLAND *et al.*, 1971; BINNIE & MITCHEL, 1973; ESTRELA *et al.*, 1995b). Isto ocorre devido à ativação de enzimas teciduais como a fosfatase alcalina (BINNIE & MITCHELL, 1973; TRONSTAD *et al.*, 1981; ESTRELA *et al.*, 1995b). A fosfatase alcalina é definida como sendo uma enzima hidrolítica que está intimamente associada ao processo de mineralização (GRANSTROM & LINDE, 1972; ESTRELA *et al.*, 1995b). Esta enzima libera íons fosfato, que se associam aos íons cálcio provenientes do sangue, formando o fosfato de cálcio na matriz orgânica. Esse precipitado é a unidade molecular da hidroxiapatita (SELTZER & BENDER, 1979; ESTRELA *et al.*, 1995b).

Ao íon hidroxila também se confere o poder antimicrobiano das pastas à base de hidróxido de cálcio (HEITHERSAY, 1975; BYSTRÖM *et al.*, 1985; SAFAVI *et al.*, 1990; SUZUKI *et al.*, 1999), ocasionando a desnaturação protéica de endotoxinas e/ ou a peroxidação dos lipídeos presentes na membrana celular bacteriana (ESTRELA *et al.*, 1994; ESTRELA *et al.*, 1995b). Esta peroxidação influencia a transferência e a permeabilidade da membrana citoplasmática pela ação do pH ao proporcionar a desintegração da membrana (KODUKULA *et al.*, 1988). A perda da integridade dessa membrana pode ser observada pela destruição dos ácidos graxos insaturados. Quando os íons hidroxila removem os átomos de hidrogênio dos ácidos graxo, um radical livre lipídico é formado ao reagir com a molécula de oxigênio, transformando o radical peróxido de lipídeo. Esse radical age como um novo indutor, e assim sucessivamente formando uma reação em cadeia (RUBIN & FARBER, 1990), que culmina na destruição da membrana celular bacteriana (ESTRELA *et al.* 1995).

Contudo deve-se ressaltar a existência da reversibilidade da inativação da atividade enzimática, ao ser restituído o pH aos valores normais. De acordo com HAN GY *et al.* (2001),

para ser efetivo no controle microbiano, o hidróxido de cálcio, como medicamento intracanal deve ser capaz de se difundir nos túbulos dentinários e manter o pH elevado. Por isso alguns tipos bacterianos podem ser resistentes ao efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio.

HAAPASALO *et al.* (2000) sugere que há uma diminuição da ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio devido ao efeito tampão da dentina. Entretanto, MIÑANA *et al.* (2001) sugeriram que o dióxido de carbono, resultante da degradação dos tecidos necróticos presentes nos túbulos dentinários, seria o responsável pela diminuição do pH. Isso aconteceria devido à diminuição dos íons hidroxila disponíveis com a formação do carbonato de cálcio e, portanto, neutralização parcial do hidróxido de cálcio. Porém, de acordo com ESTRELA *et al.* (1999) a quantidade de carbonato de cálcio formada não seria suficiente para interferir nas propriedades do hidróxido de cálcio.

A clorexidina gel, como medicamento intracanal, tem sido estudada por apresentar um amplo espectro antimicrobiano contra bactérias, leveduras e fungos (BUDTZ-JÖRGENSEN & LÖE, 1972; HENNESSEY *et al.*, 1973; EMILSON, 1977; GREENSTEIN, *et al.* 1986; FARDAL & TURNBULL, 1986).

Vários autores demonstraram que a clorexidina apresenta ainda relativa ausência de toxicidade e alta substantividade, (RUSHTON, 1977; GREENSTEIN, *et al.* 1986; JEANSONNE & WHITE, 1994), ou seja, lenta liberação da substância ativa, prolongando sua ação antimicrobiana, após a instrumentação por 48 a 72 horas (WHITE *et al.*, 1997; LEONARDO *et al.*, 1999; KOMOROWSKI *et al.* 2000).

A clorexidina é utilizada na forma de sal (gluconato, acetato ou hidrocoletto) por permanecer mais estável. Para uso oral é utilizada na forma de digluconato, por apresentar alta solubilidade em água, dissociando e interagindo com a hidroxiapatita, película adquirida,

glicoproteínas salivares, superfície de mucosas e com as paredes celulares das bactérias (GREENSTEIN, et al., 1986; FARDAL & TURNBULL, 1986).

De acordo com alguns autores, a clorexidina produz a inibição do crescimento bacteriano nas infecções endodônticas (CERVONE et al. 1990; SIQUEIRRA & UZEDA, 1997; FERRAZ, 1999). A ação antibacteriana da clorexidina é dada pela aderência das moléculas catiônicas de clorexidina às paredes celulares, as quais são carregadas negativamente. Isso causa alteração da permeabilidade da membrana celular, proporcionando o desequilíbrio osmótico e perda de componentes intracelulares. Em baixas concentrações possui efeito bacteriostático, causado pelo desequilíbrio osmótico e conseqüente perda de componentes de baixo peso molecular como fósforo e potássio. Esse efeito é alcançado pela lenta liberação da substância ativa (FARDAL & TURNBULL, 1986). Em altas concentrações, possui efeito bactericida pela precipitação ou coagulação do conteúdo citoplasmático (LONGWORTH, 1971; FARDAL & TURNBULL, 1986).

A viscosidade da clorexidina gel é dada pela base gel utilizada, o Natrosol, que permite a manutenção do princípio ativo da substância por um maior tempo no interior do canal radicular. A clorexidina gel é solúvel em água ou álcool e apresenta um pH variando entre 6,0 e 9,0 (FERRAZ, 1999).

Alguns estudos “in vitro” demonstraram que algumas substâncias eventualmente associadas ao digluconato de clorexidina gel ou líquido, reduzem sua atividade antimicrobiana, tais como: cálcio, uréia, lauril sulfato de sódio (RÖLLA & MELSEN, 1975; BONESVOLL, 1977 a) e sacarina sódica, nas concentrações 0,5% a 1,0% (CURY et al. 2000).

Da busca incessante do medicamento intracanal ideal surgiu a associação do hidróxido de cálcio e da clorexidina gel a 2%, na tentativa de aliar as propriedades de indução à mineralização

dos tecidos e ação como barreira física à recontaminação com as características da clorexidina de amplo espectro antimicrobiano, substantividade e ausência de toxicidade.

Para avaliar atividade antibacteriana do hidróxido de cálcio, digluconato de clorexidina gel 2,0% e a associação de ambos, SOUZA (2000), utilizou 300 dentes bovinos contaminados “in vitro” com *E faecalis*. Esses dentes receberam os medicamentos intracanaís e em seguida foram incubados em estufa nos períodos de zero, 5, 15, 30, 60 minutos; 1, 2, 7, 15 e 30 dias. Raspas de dentina foram coletadas e analisadas verificando-se que o hidróxido de cálcio não exibiu ação antibacteriana sobre o *E. faecalis* em nenhum dos tempos avaliados. A clorexidina gel 2,0% e a associação dos medicamentos mostraram-se ineficazes nos primeiros 60 minutos. A clorexidina gel 2,0% promoveu 100% de ação antibacteriana após os tempos de 1, 2, 7 e 15 dias. Já a associação exibiu 100% de culturas negativas após 1 e 2 dias. Entretanto, nos períodos de 7 e 15 dias constatou-se a presença de atividade bacteriana em 66,6 e 33, 3% dos espécimes, respectivamente. No entanto, este trabalho não avaliou as alterações do pH destes medicamentos nos períodos testados.

2. Proposição

Esse estudo teve por objetivo avaliar “in vitro” as alterações do pH em função do tempo da pasta à base de hidróxido de cálcio em veículo aquoso, da clorexidina gel a 2% e da associação do hidróxido de cálcio e clorexidina ausência e presença de raspas de dentina.

3. Materiais e Métodos

3.1. Substâncias a serem testadas:

- a) Pasta de hidróxido de cálcio em veículo aquoso (água destilada)
- b) Clorexidina gel a 2%
- c) Hidróxido de cálcio + clorexidina gel 2%

3.2. Preparo das pastas:

As pastas foram confeccionadas em placa de vidro livre de umidade, de tal forma a assumirem a consistência semelhante ao do creme dental. Essa consistência foi obtida através da utilização de quantidades pré -determinadas dos elementos constituintes das pastas. Para tanto, cada elemento foi pesado de acordo com os protocolos descritos a seguir:

- a) A pasta constituída pelo hidróxido de cálcio P.A. e pela água destilada teve como proporção 9 partes de pó para 7 partes de água. Gomes (2002)
- b) A clorexidina gel (Essencial Farma Manipulação Ltda, Itapetininga, SP), foi composta de digluconato de clorexidina 2% e gel de Natrosol a 1% sem conservante.
- c) A pasta obtida pela associação do hidróxido de cálcio P.A. e a clorexidina gel foi confeccionada na proporção de 1 parte de pó para 1 parte de gel.

Após o preparo, realizado em triplicata, as pastas e a clorexidina gel a 2% foram inseridas em placas de culturas de células, em uma quantidade de 4,8 g (Wells, Costar, USA).

3.3 Preparo do pó de dentina:

Foram utilizados 15 terceiros molares recém extraídos armazenados em hipoclorito de sódio 0,5% para impedir o crescimento microbiano. Antes da execução dos procedimentos, os dentes foram autoclavados (121°C por 15 min.) em água destilada para esterilização e remoção do NaOCl do sistema de canais. As coroas foram cortadas com discos diamantados. O cimento das raízes foi removido com ponta diamantada cilíndrica longa, de acordo com SOUZA, 2000 e as raízes foram trituradas em Moinho para Tecidos Duros (Marconi MA 590), reduzidas a partículas de 0,2 a 2,0 µm de diâmetro.

3.4 Grupos testes:

Como esse estudo também teve por objetivo avaliar a interferência produzida pela dentina no pH dos medicamentos intracanaais, foram avaliados dois grupos. O primeiro grupo, denominado Grupo I, foi formado apenas pelas medicações, não havendo presença de pó de dentina.

Já o Grupo II foi formado pela associação das medicações com o pó de dentina. A quantidade a ser utilizada estará na proporção de 1 parte de pó de dentina para 1 parte da medicação em peso (mg). Desse modo, foram utilizados 100 mg de pó para 100 mg de medicamento. Os períodos de mensuração foram os mesmos descritos para o grupo I.

Grupo I

- A- Hidróxido de cálcio P.A. + água destilada
- B- Clorexidina gel a 2%
- C - Hidróxido de cálcio P.A. + clorexidina gel a 2%

Grupo II

- A- Hidróxido de cálcio P.A. + água destilada + pó de dentina
- B- Clorexidina gel a 2% + pó de dentina
- C - Hidróxido de cálcio P.A. + clorexidina gel a 2% + pó de dentina

3.5 Mensuração do pH

As medições de pH foram realizadas nos períodos de 5 min, 1, 24, 48 horas, 7, 14 e 28 dias, utilizando-se o pHmetro DIGIMED DM 21 V7c, estando o mesmo calibrado com o padrão de 6,86 e 4.0 de pH. Ao final de cada mensuração, o eletrodo foi lavado em água destilada corrente por um minuto, seco em toalha de papel e permaneceu imerso em solução de cloreto de potássio 3M até a próxima análise.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente através de programa SPSS⁺ (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA), utilizando os testes adequados com significância em nível 5%.

4. Resultados

Neste presente estudo, observou-se aos 5 minutos iniciais um pH médio de 13,05 nas pastas de hidróxido de cálcio e água destilada, como pode ser visualizado na tabela 1. Tal pH demonstrou-se estatisticamente similar ao pH das pastas de hidróxido de cálcio, água e dentina (12,19). Ou seja, ao 5 minutos, não houve diferença ao se comparar as mesmas pastas ou substâncias na presença ou ausência de dentina.

No período de uma hora, as pastas de hidróxido de cálcio e água destilada (12,94) mostraram-se estatisticamente diferentes da mesma pasta na presença de dentina (11,12), enquanto as demais pastas demonstraram-se semelhantes de acordo com a análise estatística. Dessa forma, pode se afirmar que neste período a presença ou ausência da dentina não promoveu efeitos estatísticos nas pastas onde a clorexidina esteve presente, nem mesmo onde a ela foi considerada isoladamente.

Às 24 horas, a análise estatística encontrada aos 5 minutos iniciais se repetiu, sendo o pH da pasta de hidróxido de cálcio e água (12,18), similar ao pH da mesma pasta na presença de dentina (10,43) e da pasta de Ca(OH)_2 com clorexidina gel (11,16). Assim, pode se ressaltar a irrelevância da presença de dentina, uma vez que não houve diferença estatística nesse período.

Esse resultado encontrado e descrito às 24 horas se apresentou da mesma forma nos demais períodos, ou seja, a pasta de hidróxido de cálcio na ausência e presença de dentina se apresentaram estatisticamente semelhantes, bem como ao se considerar a clorexidina gel separadamente.

Outro dado observado, é que o pH das pastas sofre decréscimo com o passar do tempo, independente do veículo, da presença ou ausência de dentina ou mesmo quando a clorexidina é testada isoladamente.

5. Discussão

O hidróxido de cálcio como medicamento intracanal promove suas ações antibacterianas através de seu pH alcalino (HEITHERSAY, 1975; BYSTRÖM *et al.*, 1985; SAFAVI *et al.*, 1990; SUZUKI *et al.*, 1999).

As enzimas bacterianas são as principais responsáveis para a manutenção do equilíbrio celular. Tais enzimas desempenham funções como: participação do último estágio de formação da parede celular, biossíntese de lipídeos, participação no processo de fosforilação oxidativa, auxiliares na formação da barreira osmótica. São também responsáveis pela passagem de substâncias do interior da célula para o exterior e vice - versa, bem como atividade respiratória (BURNET & SCHUSTER, 1982; ESTRELA *et al.*, 1995). Cada uma dessas enzimas possui um pH ótimo de trabalho, no qual desempenham suas reações com velocidade máxima. São essas enzimas presentes, tanto internamente quanto externamente na membrana citoplasmática, que influenciam o complexo de reações metabólicas. Acredita-se que o controle de vazão dos nutrientes possa alterar a entrada química pela membrana, a qual é essencial para a manutenção da vida bacteriana (NOLTE, 1982; ORTEN & NEUHAUS, 1982). A energia necessária para o movimento de nutrientes orgânicos e componentes para dentro da célula é obtida pelo gradiente de pH da membrana citoplasmática, o qual pode ser alterado pela variação de pH do meio externo. O efeito do pH no movimento químico pode ser direto ou indireto. Ao atuar diretamente, influencia a atividade específica das proteínas da membrana e, indiretamente, ao permitir alterações nos estados de ionização dos componentes orgânicos. Dependendo do nível do pH, pode haver aumento de nutrientes disponíveis, e uma intensa transferência dos mesmos pode induzir inibição e efeitos tóxicos na célula (KODUKULA *et al.*, 1988). Dessa forma, a integridade da membrana citoplasmática, e portanto, da atividade enzimática é de suma

importância para a manutenção da vida, metabolismo, crescimento e diferenciação celular bacteriana (ESTRELA et al., 1995b; ESTRELA & PESCE, 1996; ESTRELA et al., 2001).

No presente estudo, aos 5 minutos o grupo de Ca(OH)_2 apresentou um pH médio de 13,05, valor mais elevado do que os encontrados em estudos similares, cujo pH variou entre 12 a 12,6 (HEITHERSAY 1975; TRONSTAD et al. 1981; BYSTROM et al. 1985; STAMOS et al. 1985; STAHLÉ et al. 1989; SAFAVI & NAKAYAMA 2000; ESTRELA et al. 2001). Essa diferença, entretanto, não se apresentou no grupo em que o pó de dentina é adicionado às pastas de hidróxido de cálcio. É o caso do grupo da clorexidina gel a 2% em presença de dentina, que obteve aos mesmos 5 minutos iniciais um pH médio de 12,18. Embora, tais valores não apresentem uma discrepância tão acentuada quanto os valores encontrados em outros estudos, não houve diferença estatística entre os grupos, sejam com presença ou ausência de dentina na maioria dos tempos analisados. Isso pode ser devido à diferença quanto aos tipos de medicamentos testados nesse presente estudo e no de HAAPASALO et al. 2000.

HAAPASALO et al. 2000 utilizou como medicamento intracanal água de cal, que devido a menor concentração de íons hidroxila torna a mais susceptível à ação tampão da dentina. Em nosso estudo, o hidróxido de cálcio foi utilizado na forma de pasta, que apresenta maiores concentrações de íons hidroxila, aliado à não permanência das mesmas em ambiente úmido. Apesar da presença de dentina ter proporcionado a queda de pH, estatisticamente foi comprovado não haver diferença entre os grupos I e II.

De acordo com PORTENIER et al. 2001, a clorexidina também sofreria uma inativação de suas ações antibacterianas pela dentina, apesar de exercer seu efeito antimicrobiano após 24h de incubação. Isso quer dizer que, embora a dentina promova uma modificação de suas atividades antibacterianas, a clorexidina não chega a sofrer inativação. Tal fato é condizente com a propriedade de substantividade apresentada pela clorexidina ao se aderir às superfícies

dentinárias. Nosso estudo, demonstrou que há realmente uma diminuição do pH ao se comparar o Grupo IB e IIB, contudo não se possa dizer que haja diferença estatística e ainda não esteja bem definido qual a influência do pH nas propriedades da clorexidina.

Na tentativa de aliar as propriedades do hidróxido de cálcio às características da clorexidina, surgiu a associação de ambos, que em nosso estudo encontrou valores de pH médio de 12,65 aos primeiros 5 minutos. Esse valor é bastante condizente com o veículo viscoso utilizado, o gel de Natrosol, uma vez que a liberação dos íons se faz de forma mais lenta. Como já foi demonstrado anteriormente, a dentina possui a propriedade de tamponar o pH alcalino promovido pela liberação de íons hidroxila das pastas de hidróxido de cálcio. Dessa forma, era de se esperar, como foi demonstrado, a diminuição dos valores médios de pH na presença de dentina ao se comparar com os valores do grupo na ausência de dentina.

Com intuito de promover a remineralização tecidual, o hidróxido de cálcio atua através da elevação do pH ambiente para alcalino, neutralizando o pH ácido resultante da atividade bacteriana e da resposta inflamatória tecidual. Dessa forma, há a ativação da enzima tecidual: fosfatase alcalina. Para tanto, o pH para ativação dessa enzima varia de 8,6 a 10,3 dependendo de alguns fatores como: temperatura, fonte de enzimas e concentração de substrato. (ESTRELA *et al.* 1995). Analisando os dados obtidos nesse trabalho pelas pastas da associação de hidróxido de cálcio e clorexidina gel, pode se dizer que as mesmas permanecem ativas para tal fim até 48 horas na ausência de dentina. Na presença da mesma, as pastas apresentam-se ativas apenas nas primeiras 24 horas, período no qual a clorexidina gel inicia sua ação antibacteriana, como já foi mencionado anteriormente por PORTENIER *et al.* 2001.

5. Conclusão

Os valores de pH decrescem com o passar do tempo, independente da substância testada, ou mesmo presença ou ausência de dentina.

Os resultados demonstraram não haver diferença estatística pela presença ou ausência de dentina.

6. Referências bibliográficas

- BYSTRÖM A, CLAERSSON E, SUNDQVIST G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* 1985; 1:170-75
- BINNIE WA, MITCHELL DF. Induce calcification in the subdermal tissues of the rat. *J Dent Res.* 1973; 52: 1087-91,
- BONESVOLL P. Oral pharmacology of chlorhexidine. *J clin Periodontol* 1977a;4:49-65.
- BUDTZ - JÖRGENSEN E, LÖE H. Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. *Scand J Dent Res* 1972; 80:457-64.
- BURNET GW, SCHUSTER GS. *Microbiologia oral e enfermidade infecciosa.* Panamericana, Buenos Aires. 1982: 31-70.
- CERVONE F, TRONSTAD L, HAMMOND B. Antimicrobial effect of chlorhexidine in a controlled release delivery system. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6:33-6
- CHONG BS, PITT FORD TT. The role of medication in root canal treatment. *Int Endod J* 1992; 25: 97-106.
- CURY JÁ, ROCHA EP, KOO H, FRANCISCO SB, DEL BEL CURY AA. Effect of saccharin on antibacterial activity of chlorhexidine gel. *Braz Dent J* 2000;11:29-34.
- EMILSON CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res* 1977; 85: 255-65.
- ESBERARD RM, CONSOLARO A. Tratado das reabsorções radiculares. *Odontol Clin.* 1998; 9 (no prelo)
- ESTRELA C, SIDNEY GB, BAMMANN LL, FELIPE Jr O. Estudo do efeito biológico do pH na atividade enzimática de bactérias anaeróbias. *Ver Fao Odont. Bauru* 1994; 4:31-8.

- ESTRELA C, SIDNEY GB, BAMMANN LL, FELIPE Jr O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J* 1995b; 2:85-90.
- ESTRELA C, PESCE HF. Chemical analysis of the liberation of calcium hydroxide ions of calcium hydroxide pastes in the presence of connective tissue of the dog. *Pat I Braz Dent J*.1996; 7:41-6.
- ESTRELA C, PÉCORA JD, SOUZA-NETO MD, ESTRELA CRD, BAMMANN LL. Effect of vehicle antimicrobial properties of calcium hydroxide pastes. *Braz dent J*. 1999; 2: 63-72.
- ESTRELA C, BAMMANN LL, PIMENTA FC, PÉCORA JD. Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes. *Int Endod J*. 2001; 34: 341-5.
- FARDAL O, TURNBULL RS. A review of the literatura on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc* 1986; 112:863-9.
- FERRAZ CCR. Avaliação in vitro do gel de clorexidina usado como irrigante endodôntico. Piracicaba, 1999. 141p. Tese/doutorado - Universidade Estadual de Campinas.
- GOMES CI et al. Deiffusion of calcium through dentine. *J Endod*. 1996; 2:590-5.
- GRANDSTROM G, LINDE A. A biochemical study of alkaline phosohatase in isolated rat incisor odontoblast. *Arch Oral Biol*.1972; 17: 1213-24.
- GREENSTEIN G, MERMAN C, JAFFIN R.Chloerhexidine na adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 1986; 57:370-6.
- HAAPASALO HK, SIRÉN EK, WALTIMO TMT, ØRSTAVIK D, HAAPASALO MPP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J*. 2000; 33:126-31,

- HAN GY, PARK SH, YOON TC. Antimicrobial activity of Ca(OH) containing pastes with *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Endod* . 2001; 5: 328-332.
- HEITHERSAY GS. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. *J Brit Endodon Soc* 1975; 8:74-92.
- HENNESSEY FD. Some antibacterial properties of chlorhexidine. *J Periodontol Res* 1973; 8 (Suppl. 12): 61-7.
- HOLLAND R, SOUZA V, MILANEZI LA. Resposta do coto pulpar e tecidos periapicais e algumas pastas empregadas na obturação dos canais radiculares. *Arq Est Fac Odont UFMG*, 1971; 8:189-97.
- HOLLAND R. Histochemical response of amputated pulp to calcium hydroxide. *Ver Bras Pesq Med Biol*. 1971; 4:83-95.
- HOLLAND R et al. Root canal treatment with calcium hydroxide effect of a only or a water soluble vehicle. *Rev Odontol UNESP*. 1983; 12:1-6.
- HOLLAND R, SOUZA V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material for induce hard tissue formation. *J Endod* 1985; 11:535-43.
- JEANSONNE MJ, WHITE RR. A comparison of 2,0% chlorhexidine gluconate and 5,25 % sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigant. *J Endodon* 1994; 20:276-8.
- KODUKULA PS, PRAKASAM TBS, ANTONISEN AC. Role of pH in biological wastewater treatment process. In. *Physiological models in microbiology*. BAZIM MJ, PROSSER JI eds 1 st edn. CRC Press, Florida. 1988: 114-134.
- KOMOROWSKI R, GRAD H, WU XY, FRIEDMAN S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine treated bovine root dentin . *J Endod* 2000; 6: 315-17.

- ✓ LEONARDO MR, REIS RT, SILVA LAB, LOFFREDO LCM. Hidróxido de cálcio em endodontia. Avaliação da alteração do pH e da liberação de íons de cálcio em produtos endodônticos à base de hidróxido de cálcio. Rgo 1992; 40: 69-72.
- ✓ LEONARDO MR, SIMÕES FILHO AP, ESBERARD RM, BONETTI FILHO I, LEONARDO RT. Safe and easy way to use calcium hydroxide as a temporary dressing. J Endodon 1993; 6:319-20.
- LEONARDO MR, FILHO MT, SILVA LAB, FILHO PN, BONIFÁCIO KC, ITO IY. In vivo antimicrobial activity of 2,0%chlorhexidine used as root canal irrigant solution. J Endon 1999; 25:167-71.
- LONGWORTH AR. Chlorhexidine. In: HUGO WB. (ed): Inhibition and destruction of the microbial cell. Academic Press, London, New Yoek. 1971, p 96-106.
- MIÑANA M, CARNES Jr DL, WALKER III WA. pH changes at the surface of root dentin after intracanal dressing with calcium oxide and calcium hydroxide. J Endod. 2001; 27:43-5.
- NOLTE WA. Oral microbiology. 4 th. Edn Mosby, London. 1982: 3-37.
- ORTEN JM, NEUHAUS OW. Human biochemistry. 10th edn. Mosby, London. 1982: 61-98.
- PPRTENIER I, HAAPASALO H, RYE A, WALTIMO T, ORSTAVIK D & HAAPASALO M. Inactivation of root canal medicaments by dentine, hidroxyapatite and bovine serum albumin. Intern Endod J. 2001; 34:184-8.
- RÖLLA G, MELSEN B. On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. J Dent Res 1975; 54: B57-B62.
- RUBIN E, FARBER JL. Patologia, 1 st. edn. Interlivros, Rio de Janeiro. 1990: 2-30.
- RUSHTON A. Safety of HibitaneII. Human experience. J Clin Periodontol 1977; 4:73-9

- SAFAVI K, NAKAYAMA TA. Influence of mixing vehicle on dissociation of calcium hydroxide in solution. J Endodont 2000);26: 649-51.
- SAFAVI KE, SPANGBERG LS, LANGELAND K. Root canal dentinal tubule disinfection. J Endodon 1990 ; 16:207-10.
- SELTZER S, BENDER IB. A polpa dental. 2nd ed. Labor, Rio de Janeiro, 1979.
- SIQUEIRA Jr JF, UZEDA M. Intracanal medicaments evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole and calcium hydroxide associated with three vehicles. J Endodon 1997; 23:167-9.
- SOUZA, SFC. Atividade antibacteriana in vitro da clorexidina gel, hidróxido de cálcio e associação de ambos utilizados como medicamento intracanal em dentina bovina contaminada com *Enterococcus faecalis*. Piracicaba, 2000 141p. Tese/doutorado - Universidade Estadual de Campinas.
- SUZUKI, HIGUCHI N, HORIBA N, MATSUMOTO T, NAKAMURA H. Antimicrobial effect of calcium hydroxide in bacteria isolated from infected root canals. Dentistry in Japan. 1999; 35: 43-7.
- SJÖGREN U, HÄNSTRÖM L, HAPPONEN RP & SUNDQVIST. Extense bone loss associated with periapical infection with *Bacterioides gingivalis*: a case report. Int Endod J. 1990; 23:254-62,
- STAEHLE HJ, PIOCHT T, HOPPE W. The alkalizing properties of calcium hydroxide compounds. Endod Dent Traumatol. 1989; 5:147-52.
- TROPE M. Relationship of intracanal medicaments to endodontic flare-ups. Endod Dent Traumatol. 1990; 6:226-29,

TRONSTAD L, ANDREASEN JO, HASSEL L, KRISTERSON L RITS I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. J Endodon 1981; 7:17-21.

WHITE RR, HAYS GL, JANER LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. J Endodon 1997; 23:229-31.