



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE  
ARARAQUARA**



**AVALIAÇÃO DA DIFUSÃO DE ÍONS HIDROXILA  
E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE  
MEDICAÇÕES INTRACANAL À BASE DE  
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO**



**REGINA KARLA DE  
PONTES LIMA**

**ARARAQUARA  
2010**

**UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA**

**REGINA KARLA DE PONTES LIMA**

**AVALIAÇÃO DA DIFUSÃO DE ÍONS HIDROXILA E DA ATIVIDADE  
ANTIBACTERIANA DE MEDICAÇÕES INTRACANAL À BASE DE  
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Endodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista, para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

**Orientadora:** Profa. Dra. Juliane Maria  
Guerreiro Tanomaru

ARARAQUARA

2010

Lima, Regina Karla de Pontes

Avaliação da difusão de íons hidroxila e da atividade antibacteriana de medicações intracanal à base de hidróxido de cálcio / Regina Karla de Pontes Lima. – Araraquara: [s.n.], 2010.

85 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

1. Endodontia 2. Concentração de íons de hidrogênio  
3. Enterococcus faecalis 4. hidróxido de cálcio I. Título

**REGINA KARLA DE PONTES LIMA**

**AVALIAÇÃO DA DIFUSÃO DE ÍONS HIDROXILA E DA ATIVIDADE  
ANTIBACTERIANA DE MEDICAÇÕES INTRACANAL À BASE DE  
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO**

**COMISSÃO JULGADORA**

**TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR**

Presidente e Orientador: Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

2º Examinador: Prof. Dr. Evandro Watanabe

3º Examinador: Prof. Dr. Igor Prokopowitsch

4º Examinador: Profa. Dra. Gisele Faria

5º Examinador: Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho

Araraquara, 09 de dezembro de 2010.

## **DADOS CURRICULARES**

### ***REGINA KARLA DE PONTES LIMA***

NASCIMENTO	23.10.1975 – Limoeiro/PE
FILIAÇÃO	José Moura de Lima Alba Maria de Pontes Lima
1993 – 1997	Curso de Graduação em Odontologia na Universidade de Pernambuco (FOP/UPE)
1997 – 1999	Curso de Aperfeiçoamento em Endodontia no Centro de Estudos e Assistência Odontológica (CEAO), Recife/PE
1999 – 2000	Curso de Especialização em Endodontia na Associação Paulista dos Cirurgiões Dentistas (APCD), São Carlos/SP
2004 – 2006	Curso de Pós-Graduação em Endodontia, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOAr/UNESP)
2007 – 2010	Curso de Pós-Graduação em Endodontia, nível de Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOAr/UNESP)
ASSOCIAÇÕES	SBPqO

## ***DEDICATÓRIA***

*A DEUS*, por iluminar e abençoar sempre o meu caminho.

A minha linda e amada filha *MARIANA*, que participou intensamente deste sonho. Desculpe pelos sacrifícios que fiz você passar e pelos vários momentos de ausência. Você é minha maior conquista e também a realização de um sonho.

Ao meu marido, *MARCO* que apesar de sofrer com minha ausência, me transmitiu muita força, segurança e amor para chegar a este momento. Obrigada por mais esta conquista e pela maravilhosa filha que temos. A vocês, dedico esta vitória com muito amor e gratidão.

Aos meus pais *JOSÉ MOURA* e *ALBA*, pelo amor incondicional e incentivo em todos os momentos da minha vida. Tenho muito orgulho de ser filha de vocês e sou muito grata pelo esforço que fizeram pela minha educação e criação.

Aos meus irmãos *NETO, DUDU e DIEGO*, pela amizade, apoio e união que existe entre nós, apesar da distância. Vocês são muito importantes na minha vida.

## ***AGRADECIMENTOS ESPECIAIS***

*À Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru*, pela confiança, apoio, orientação e principalmente pela agradável convivência não apenas durante o doutorado, mas durante toda a pós-graduação. Foi uma honra ser sua primeira orientada de doutorado e poder contar com você durante esta etapa da minha vida. Apesar de estar a pouco tempo na docência, você foi uma verdadeira orientadora, estando presente em todas as fases do meu curso, me ensinando valores como humildade, dedicação e amizade. Sei que posso sempre contar com você. Minha eterna gratidão, amizade e admiração.

*Ao Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho*, pelo constante apoio, carinho e amizade. Também o considero como orientador e vou sempre lembrar dos seus conselhos e ensinamentos. Muito obrigada pela sua compreensão e apoio durante este curso, principalmente quando tive que me ausentar pelo nascimento da Mariana. Você e a Juliane foram fundamentais nesta conquista.

À minha sogra *D. Daisy*, exemplo de garra, coragem e amor à profissão. Sou grata pelos conselhos, apoio, carinho e incentivo durante todos estes anos.

À **Lourdes** pelo amor e dedicação demonstrados a mim e a Mariana. Você foi muito importante na minha criação e está sendo na da minha filha. Tenho muita sorte de ter você conosco. Não teria conseguido sem você.

Aos queridos amigos **Norberto, Roberta Bosso e Daniele**, pelo carinho, amizade e fundamental ajuda nesta pesquisa. Vocês são muito especiais.

A minha querida amiga **Vivian**, que me ajudou muito durante este curso, me dando força, carinho e atenção. Obrigada por oferecer sua casa para minha família. Você e sua família estarão sempre nos nossos corações.

Ao meu grande amigo e incentivador **Marcos Jacobovitz**, exemplo de profissionalismo e amizade. Muito obrigada pelas oportunidades e confiança que você tem depositado em mim.

Aos amigos **Sérgio e Arnaldo** pelo incentivo, conselhos e grande ajuda, principalmente no início do curso. Muito obrigada pela amizade de vocês.

As minhas grandes amigas **Fernanda, Mariana, Renata e Roberta**, pela convivência, amizade e incentivo. Nunca esquecerei de vocês.



## ***AGRADECIMENTOS***

À *Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)*, na pessoa de seu Magnífico Reitor Prof. Dr. Herman Jacobus Cornelis Voorwald e vice-reitor Prof. Dr. Julio Cezar Durigan.

À *Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP*, na pessoa de seu Diretor Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla e vice-diretora Profa. Dra. Andréia Affonso Barreto Montandon.

Ao *Departamento de Odontologia Restauradora* da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, representado pelo Chefe de Departamento Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Júnior e vice-chefe Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho.

Ao *Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Endodontia*, coordenado pelo Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho.

Aos *docentes da Disciplina de Endodontia* da Faculdade de Odontologia de Araraquara, Prof. Dr. Fábio Luiz Camargo Villela Berbert, Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho, Profa. Dra. Juliane Tanomaru, Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho, Prof. Dr. Renato de Toledo Leonardo e Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard, pela convivência e contribuição à minha formação profissional.

Aos *funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora* desta Faculdade, Marinho, Creusa, Célia, Cida Ignácio, Cida Venâncio, Sr. Pedro e Conceição, pelo apoio e dedicação.

Aos *funcionários da Seção de Pós-Graduação*, Alexandre, Mara e Rosângela, pela paciência, gentileza e simpatia que sempre me atenderam.

Aos *funcionários da Biblioteca*, pelo auxílio nas pesquisas bibliográficas e revisões deste trabalho.

Aos *colegas de Pós-Graduação (Nível Mestrado)*, Ana Carolina, Ana Lívia, Carolina, Geraldine, Naiana, Paula, Renata, Roberta Farac, Roberta Bosso e Santiago, pelo companheirismo e agradável convivência.

Aos *colegas de Pós-Graduação (Nível Doutorado)*, Adriana, Anderson, Arnaldo, Érica, Guilherme, Louise, Norberto, Renatinho, Rodrigo e Sérgio, pelo respeito e amizade no período em que convivemos.

A *CAPES* pela concessão de bolsa de estudos.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	13
INTRODUÇÃO.....	16
PROPOSIÇÃO.....	20
CAPÍTULO 1.....	22
CAPÍTULO 2.....	40
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
REFERÊNCIAS.....	69
APÊNDICE.....	80
ANEXO.....	84

# *Resumo*

---

Lima RKP. Avaliação da difusão de íons hidroxila e da atividade antibacteriana de medicações intracanal à base de hidróxido de cálcio [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2010.

## **RESUMO**

Este estudo objetivou avaliar a capacidade de liberação e difusão de íons hidroxila, e a atividade antibacteriana de medicações intracanal, *in vitro*. No primeiro experimento, canais radiculares de dentes bovinos foram instrumentados. Uma cavidade de 4 mm de comprimento, 2 mm de largura e 0,5 mm de profundidade foi confeccionada no terço médio/apical radicular de cada amostra. A abertura coronária e a superfície externa radicular foram seladas com adesivo e esmalte para unhas, exceto a área da cavidade preparada. Os canais radiculares foram preenchidos com as seguintes medicações: G1: hidróxido de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ )/soro; G2: Calen; G3: Calen/PMCC; G4: Calen/Clorexidina (CLX) a 0,4%. Os dentes foram armazenados individualmente em frascos contendo água destilada a 37°C. As medições do pH foram realizadas nos períodos de 1, 3, 7, 14, 21, 30 e 60 dias, com utilização de pHmetro digital. Os resultados mostraram aumento significativo do pH a partir de 3 dias para a pasta Calen/CLX e para as demais pastas a partir de 7 até os 14 dias. Para a pasta Calen ocorreu aumento até os 21 dias. A pasta Calen/PMCC apresentou pH mais elevado até 21 dias, sendo os resultados semelhantes para todos grupos aos 30 dias. Aos 60 dias, os maiores valores de pH foram observados para as pastas Calen/PMCC e Calen. Conclui-se

que as diferentes composições de pastas à base de  $\text{Ca(OH)}_2$  proporcionam difusão de íons hidroxila pela dentina radicular. Em outro experimento, 106 dentes humanos unirradiculados tiveram seus canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis* e incubados a 37°C por 21 dias. Em seguida, foram divididos de acordo com a medicação intracanal e o período em: G1: Calen - 7 dias; G2: Calen - 14 dias; G3: Calen/PMCC - 7 dias; G4: Calen/PMCC - 14 dias; G5: Calen/CLX a 0,4% - 7 dias; G6: Calen/CLX a 0,4% - 14 dias; G7: Calen/CLX a 1% - 7 dias; G8: Calen/CLX a 1% - 14 dias. Coletas microbiológicas foram realizadas imediatamente após a remoção da medicação intracanal e decorrido o período de sete dias. Após diluições decimais seriadas, alíquotas foram semeadas em placas de TSA e a contagem de UFC/mL determinada. Foi observado que, para todas as medicações analisadas, houve ausência de *E. faecalis* logo após sua remoção. Porém, todos os espécimes apresentaram aumento na contagem bacteriana após sete dias. Na coleta final, Calen/PMCC e Calen/CLX apresentaram menor número de UFC/mL que o Calen. Nenhuma medicação intracanal analisada foi capaz de eliminar completamente *E. faecalis* do sistema de canais radiculares.

**Palavras-chave:** Endodontia, concentração de íons de hidrogênio, *Enterococcus faecalis*, hidróxido de cálcio

# *Abstract*

---

Lima RKP. Evaluation of hydroxyl ions diffusion and antibacterial activity of calcium hydroxide based intracanal medication [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2010.

### ***ABSTRACT***

The aim of this study was to evaluate the release and diffusion of hydroxyl ions, and the antibacterial activity of intracanal medication, in vitro. At first study, root canals from bovine teeth were instrumented. A cavity with 4 mm of length, 2 mm of width and 0.5 mm of depth was opened at middle/apical third of each sample. The coronal opening and the external surface of the roots were coated with a nail polish layer and a layer of sticky wax, except on the cavity area. Root canals were filled with the following intracanal medication: G1: calcium hydroxide powder with saline solution ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ); G2: Calen; G3: Calen/PMCC; G4: Calen/Chlorhexidine (CHX) 0.4%. Teeth were stored individually in recipients with distilled water at 37°C. Measurements of pH were made at periods of 1, 3, 5, 7, 14, 21, 30 and 60 days, using a digital pH meter. Results showed a significant increase of pH from 3 days for Calen/PMCC, and from 7 until 14 days for the other medications. For Calen, an increase was observed until 21 days. Calen/PMCC showed the highest pH until 21 days, and all the groups had similar results at 30 days. At 60 days, the highest pH values were observed for Calen/PMCC and Calen. It is possible to conclude that different compositions of calcium hydroxide pastes caused diffusion of hydroxyl ions through radicular dentin. In another study, 106 single-rooted human teeth had their root canals



contaminated with *Enterococcus faecalis* and incubated at 37°C for 21 days. Then, these teeth were divided according to intracanal medication and periods: G1: Calen - 7 days; G2: Calen - 14 days; G3: Calen/PMCC - 7 days; G4: Calen/PMCC - 14 days; G5: Calen/CHX 0.4% - 7 days; G6: Calen/CHX 0.4% - 14 days; G7: Calen/CHX 1% - 7 days; G8: Calen/CHX 1% - 14 days. Microbiological samples were collected immediately after intracanal medication removal and after seven days. After serial 10-fold dilutions and culture in TSA plates, CFU/mL counts were determined. It was observed that, for all analyzed medications, there was a lack of *E. faecalis* right after their removal. However, all specimens presented an increase at bacterial count after seven days. At final sample collection, Calen/PMCC and Calen/CHX presented a lower number of CFU/mL than Calen. None of analyzed intracanal medication was able for fully eliminating *E. faecalis* from root canals system.

**Keywords:** Endodontics, hydrogen-ion concentration, *Enterococcus faecalis*, calcium hydroxide

# ***Introdução***

---

## INTRODUÇÃO

Microorganismos são considerados agentes etiológicos primários no desenvolvimento de lesões periapicais<sup>27</sup>. Desta forma, um objetivo fundamental do tratamento endodôntico, nos casos de necrose pulpar e lesão periapical, é a eliminação da infecção endodôntica no sistema de canais radiculares.

O preparo biomecânico do canal radicular reduz significativamente a microbiota endodôntica<sup>10,41</sup>. Entretanto, é incapaz de eliminar microrganismos das complexidades anatômicas, permitindo o seu desenvolvimento no sistema de canais radiculares<sup>11,50</sup>. Desta forma, a utilização de medicação intracanal com ação antimicrobiana é necessária para potencializar a desinfecção do sistema de canais radiculares, cemento apical e túbulos dentinários<sup>10,11,58</sup>.

O hidróxido de cálcio ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) tem sido amplamente utilizado devido a sua boa propriedade biológica<sup>32,37</sup>, ação antimicrobiana, principalmente contra anaeróbios Gram-negativos<sup>33,38</sup>, capacidade de inativar os efeitos da endotoxina bacteriana *in vitro*<sup>9</sup> e *in vivo*<sup>57</sup>, capacidade de dissolução de tecido orgânico<sup>40</sup>, ação anti-exsudativa<sup>1</sup>. Além disto, age como barreira física, prevenindo a reinfecção do canal radicular e interrompendo o suprimento alimentar para microrganismos remanescentes ao tratamento<sup>50</sup>. A sua efetividade, por contato direto ou indireto nos túbulos dentinários<sup>52</sup>, contra microrganismos localizados dentro dos túbulos dentinários depende da difusão de íons hidroxila ( $\text{OH}^-$ ), pela dentina, em concentrações suficientes para exceder a capacidade tampão e alcançar níveis adequados de pH para destruir bactérias<sup>24,50</sup>.

Apesar de suas excelentes propriedades, o  $\text{Ca(OH)}_2$  não apresenta a mesma efetividade contra todos os microrganismos presentes no canal radicular. Vários estudos relatam a reduzida atividade antimicrobiana do  $\text{Ca(OH)}_2$  em erradicar *Enterococcus faecalis*, uma bactéria frequentemente isolada de dentes com insucesso na terapia endodôntica e que apresenta resistência a uma ampla variedade de agentes antimicrobianos, devido a diversos mecanismos de defesa<sup>16,20,21,36</sup>.

Com o intuito de ampliar a ação bactericida do  $\text{Ca(OH)}_2$ , a fim de se encontrar uma alternativa mais eficaz para o combate à infecção do canal radicular, tem sido sugerida sua associação com outros agentes antimicrobianos, como o paramonoclorofenol canforado (PMCC)<sup>49,50,55</sup> e a clorexidina (CLX)<sup>2,19</sup>.

O  $\text{Ca(OH)}_2$  associado ao PMCC, além de apresentar uma atividade antimicrobiana mais ampla para microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, resulta na formação de paramonoclorofenolato de cálcio, que permite uma liberação controlada e prolongada de íons cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e  $\text{OH}^{-32}$ .

A CLX é um agente antimicrobiano ativo do grupo das biguanidas, proposta na endodontia tanto como solução irrigadora, como medicação intracanal devido ao seu amplo espectro antimicrobiano, difusibilidade e substantividade<sup>3,5,23,46</sup>, embora não seja capaz de inativar o LPS bacteriano<sup>9,57</sup> e de dissolver tecidos orgânicos<sup>39</sup>.

A associação  $\text{Ca(OH)}_2/\text{CLX}$  vem sendo pesquisada pelo possível sinergismo entre estas substâncias, aumentando a ação antibacteriana do  $\text{Ca(OH)}_2$ <sup>2,19,49</sup>. Porém, alguns autores afirmam que não há aumento da eficácia da

pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$ , quando a CLX é associada, e que o veículo com que o  $\text{Ca(OH)}_2$  é misturado, pode afetar suas propriedades, aplicações e efetividade clínica<sup>3,18,25</sup>. Desta forma, a verificação do efeito da associação de diferentes substâncias na difusão do  $\text{Ca(OH)}_2$  pela massa dentinária e sistema de canais radiculares é importante para o uso clínico destes materiais.

Devido à patogenicidade e os mecanismos de resistência de *E. faecalis* nas infecções endodônticas persistentes, é oportuno avaliar e desenvolver medicações intracanal para redução desta carga microbiana.

# ***Proposição***

---

## PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste trabalho foram:

1. Avaliar, *in vitro*, as alterações no pH da dentina radicular externa, após preenchimento de canal radicular com diferentes medicações intracanal à base de hidróxido de cálcio.
2. Avaliar, *ex vivo*, a atividade antibacteriana de medicações intracanal à base de hidróxido de cálcio, nos períodos de 7 e 14 dias, em canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis*.

**AVALIAÇÃO DA DIFUSÃO DE ÍONS HIDROXILA DE  
MEDICAÇÕES INTRACANAL À BASE DE HIDRÓXIDO DE  
CÁLCIO**

***Capítulo 1***

---

Artigo a ser submetido para publicação no periódico *Dental Traumatology*.



## RESUMO

*Introdução:* O hidróxido de cálcio ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) tem sido amplamente utilizado como curativo de demora, sendo a capacidade de liberação e difusão dos íons hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) importante para sua atuação. O veículo e substâncias associadas ao  $\text{Ca(OH)}_2$  podem influenciar a capacidade de liberação de íons. *Objetivo:* Avaliar a capacidade de liberação e difusão dos íons  $\text{OH}^-$  das seguintes medicações: G1: ( $\text{Ca(OH)}_2$ )/soro; G2: Calen; G3: Calen/PMCC; G4: Calen/Clorexidina (CLX) a 0,4%. *Material e Métodos:* Foram utilizados raízes de dentes bovinos, cujos canais radiculares foram instrumentados de forma padronizada. Uma cavidade foi confeccionada no terço médio radicular de cada amostra. A abertura coronária e a superfície externa radicular foram seladas com uma camada de adesivo e esmalte para unhas, exceto a área da cavidade preparada. Os canais radiculares foram preenchidos pelos curativos de demora em estudo. Os dentes foram armazenados individualmente em frascos contendo 10 mL de água destilada a 37°C. As medições do pH foram realizadas nos períodos de 1, 3, 7, 14, 21, 30 e 60 dias, com utilização de pHmetro digital. *Resultados:* Os resultados mostraram aumento significativo do pH a partir de 3 dias para a pasta Calen/CLX e para as demais pastas de 7 até 14 dias. A pasta Calen demonstrou aumento até os 21 dias. A pasta Calen/PMCC apresentou pH mais elevado até 21 dias, sendo os resultados semelhantes para todos grupos aos 30 dias. Aos 60 dias, os maiores valores de pH foram observados para as pastas Calen/PMCC e Calen. *Conclusão:* As diferentes

composições de pastas à base de  $\text{Ca(OH)}_2$  proporcionam difusão de íons  $\text{OH}^-$  pela dentina radicular.

**Palavras-chave:** Endodontia; hidróxido de cálcio; veículo; pH.

## INTRODUÇÃO

Para obtenção do sucesso após tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar e lesão periapical crônica, atenção primordial deve ser dada às bactérias presentes no sistema de canais radiculares, por exercerem um papel decisivo no desenvolvimento e manutenção dessas lesões (1). A dificuldade de eliminação dos microrganismos do sistema de canais radiculares, túbulos dentinários e superfície apical radicular externa tornam necessário o emprego da medicação intracanal inibindo o crescimento ou destruindo aqueles microrganismos não eliminados pela ação do preparo biomecânico (2).

O hidróxido de cálcio ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) tem sido amplamente utilizado como medicação intracanal por apresentar ação antibacteriana (3,4), ação anti-exsudativa (5), ação indutora da formação de tecido mineralizado (6), biocompatibilidade (7), propriedade de dissolução de tecidos necróticos (8), absorção de  $\text{CO}_2$  (9) e promover a inativação da endotoxina (LPS) bacteriana in vitro (10) e in vivo (11). Apresenta ainda capacidade física de impedir recontaminação e percolação por fluidos que funcionam como substrato para bactérias residuais (12).

O mecanismo de ação antimicrobiana do  $\text{Ca(OH)}_2$  está relacionado ao seu pH alcalino, que tem um efeito destrutivo na membrana da célula bacteriana e estrutura protéica (3, 13). Esta ação é determinada pela liberação de íons hidroxila ( $\text{OH}^-$ ), os quais necessitam de um tempo ideal para a destruição efetiva dos

microrganismos, agindo por contato direto ou indireto nos túbulos dentinários (14).

Apesar de suas excelentes propriedades, o  $\text{Ca(OH)}_2$  não apresenta efetividade contra todas as bactérias encontradas no canal radicular (15). Desta forma, diferentes substâncias têm sido associadas ao  $\text{Ca(OH)}_2$ , com o objetivo de melhorar sua efetividade antimicrobiana. O digluconato de clorexidina (CLX) é um agente antimicrobiano ativo do grupo das biguanidas, sendo usado em endodontia tanto como solução irrigadora, como medicação intracanal devido ao seu amplo espectro antimicrobiano (16), difusibilidade e substantividade (17), embora não seja capaz de inativar o LPS bacteriano (10) e de dissolver os tecidos (18). Desta forma, as atuações antimicrobianas do  $\text{Ca(OH)}_2$  e do digluconato de CLX podem ser complementares, apresentando efeito antimicrobiano aditivo ou sinérgico (19-20).

Porém, a adição de substâncias ao  $\text{Ca(OH)}_2$  para a formulação de uma pasta, pode alterar suas propriedades, modificando o pH, interferindo na dissociação iônica do produto, na biocompatibilidade tecidual e, conseqüentemente, na propriedade antimicrobiana e biológica (21). Desta forma, a verificação do efeito da associação de diferentes substâncias na difusão do  $\text{Ca(OH)}_2$  pela massa dentinária e sistema de canais radiculares é importante para o uso clínico destes materiais.

O objetivo deste estudo foi avaliar, *in vitro*, a capacidade de liberação e difusão dos íons  $\text{OH}^-$  de diferentes medicações intracanal à base de  $\text{Ca(OH)}_2$ .

## MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliação da liberação de íons  $\text{OH}^-$  das pastas à base de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  associado aos diferentes veículos foram utilizados 50 dentes bovinos. Os espécimes tiveram suas coroas removidas próximo a junção amelocementária, com auxílio de um disco diamantado 4258 acoplado a máquina Isomet 1000 (Buehler, Lake Bluff, IL. EUA), mantendo um comprimento radicular médio de 15 mm. Em seguida, os espécimes permaneceram por 48 horas em solução de hipoclorito de sódio a 2,5%, em temperatura ambiente, e posteriormente em água destilada, por mais 48 horas. Os canais radiculares foram instrumentados até o nível de 1 mm aquém do comprimento total do canal radicular, de forma padronizada. A instrumentação foi realizada pela técnica clássica, dilatando-se o batente apical até lima K#110 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça). Para complementação do preparo cervical foi utilizada a broca de Gates-Glidden n° 5 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) até o comprimento de 10 mm.

A irrigação dos canais radiculares, durante todo o preparo biomecânico, foi realizada com solução de hipoclorito de sódio 2,5% (Instituto de Química, Araraquara, UNESP – Brasil), sendo 5 mL no início e ao fim da instrumentação e 2 mL a cada troca de lima. Para remoção da smear layer, foi utilizada solução de EDTA 17% (Odahcam Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil), agitada com a lima memória (lima K#110) por três minutos. Em seguida, foi realizada uma irrigação final com 5mL de soro fisiológico.

Uma cavidade de 4 mm de comprimento, 2 mm de largura e 0,5 mm de profundidade foi confeccionada na superfície radicular proximal, entre 5 e 9

mm do ápice radicular, de todas as amostras, com auxílio de um microscópio operatório e fresa diamantada nº 1052 (KG Sorensen Ind. e Com. Ltda, São Paulo, Brasil), em alta rotação. Para garantir a todas as amostras uma mesma quantidade de dentina entre a parede de fundo da cavidade e a parede do canal radicular, estas foram radiografadas e mensuradas.

Os dentes foram armazenados conjuntamente, em um frasco contendo água destilada, sem medicação intracanal e sem selamento por 14 dias a 37°C, a fim de verificar possíveis perdas iônicas da própria estrutura dental.

Ao final deste período, os dentes foram retirados dos frascos e impermeabilizados com uma camada de adesivo epóxi (Brascola, Joinville, SC, Brasil), complementado por uma camada de esmalte para unhas, exceto na área de preparo (APÊNDICE A – FIGURA A1). Apenas os dentes do Grupo 6 (controle impermeabilizado) receberam impermeabilização total, incluindo a área de preparo. Após a secagem da impermeabilização, os espécimes foram divididos aleatoriamente em 6 grupos, e os canais radiculares preenchidos com os seguintes curativos de demora analisados:

Grupo 1 (n=10) – Pó de  $\text{Ca(OH)}_2$  (Merck, USA) associado com soro fisiológico na proporção de 1g de pó para 1mL de soro;

Grupo 2 (n=10) – Pasta Calen (S. S. White Art. Dent. Ltda, RJ, Brasil), composta de:  $\text{Ca(OH)}_2$ , óxido de zinco, colofônia, polietilenoglicol 400;

Grupo 3 (n=10) – Pasta Calen/PMCC (S. S. White Art. Dent. Ltda, RJ, Brasil), composta de:  $\text{Ca(OH)}_2$ , óxido de zinco, colofônia, polietilenoglicol 400, PMCC;

Grupo 4 (n=10) – Pasta Calen (S. S. White Art. Dent. Ltda, RJ, Brasil) associada a solução de gluconato de CLX (Arte & Ciência, Araraquara, Brasil), na concentração de 0,4% do total da pasta;

Grupo 5 (n=5) – Controle sem medicação;

Grupo 6 (n=5) – Controle impermeabilizado. Canais preenchidos semelhante ao Grupo 1, com os dentes totalmente impermeabilizados.

As pastas  $\text{Ca(OH)}_2$ /soro e Calen/CLX foram espatuladas e levadas ao interior dos canais radiculares com o auxílio de uma seringa plástica de 3 mL BD (Benton, Dickinson and Company, Juiz de Fora, MG, Brasil) munida de agulha 1,20x40 (Benton, Dickinson and Company, Juiz de Fora, MG, Brasil). As pastas Calen e Calen/PMCC foram colocadas no interior dos canais com seringa endodôntica ML (S.S.White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) munida de agulha Septojet XL longa (Septodont Brasil Ltda, Barueri, SP, Brasil), preenchendo toda a extensão dos canais radiculares (APÊNDICE A - FIGURA A2). Em seguida, as aberturas coronárias foram impermeabilizadas como já descrito anteriormente.

As amostras foram imersas em frascos munidos de tampa com rosca (JProlab, São José dos Pinhais, PR, Brasil) contendo 10 mL de água destilada com pH conhecido. Estes foram selados e levados à estufa a 37°C. Nos períodos de 1, 3, 7, 14, 21, 30 e 60 dias, a água de cada frasco foi analisada quanto ao pH, calibrado na temperatura de 25°C. A leitura do pH foi realizada com o auxílio do aparelho Digimed DM-21 (Digicrom Analítica Ltda., São Paulo, Brasil). Para isto, o aparelho foi calibrado previamente com soluções tampão com o pHs conhecidos de 4, 7 e 10. Durante toda a leitura do pH foram realizadas medições nesses

tampões para confirmar a precisão do aparelho (APÊNDICE A - FIGURAS A3 e A4). Os resultados obtidos foram registrados, analisados e submetidos à análise estatística, pela análise de variância ANOVA e teste de Tukey, ao nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

No presente estudo, todas as pastas à base de  $\text{Ca(OH)}_2$  avaliadas promoveram alcalinização da massa dentinária radicular, elevando os valores de pH, em relação aos grupos controle, porém com diferença estatisticamente significante entre os grupos. Houve aumento significativo do pH a partir de 3 dias para o Grupo 4 (Calen/CLX) e os demais grupos a partir de 7 dias, até os 14 dias. O Grupo 2 (Calen) apresentou aumento significativo até os 21 dias (FIGURA 5).

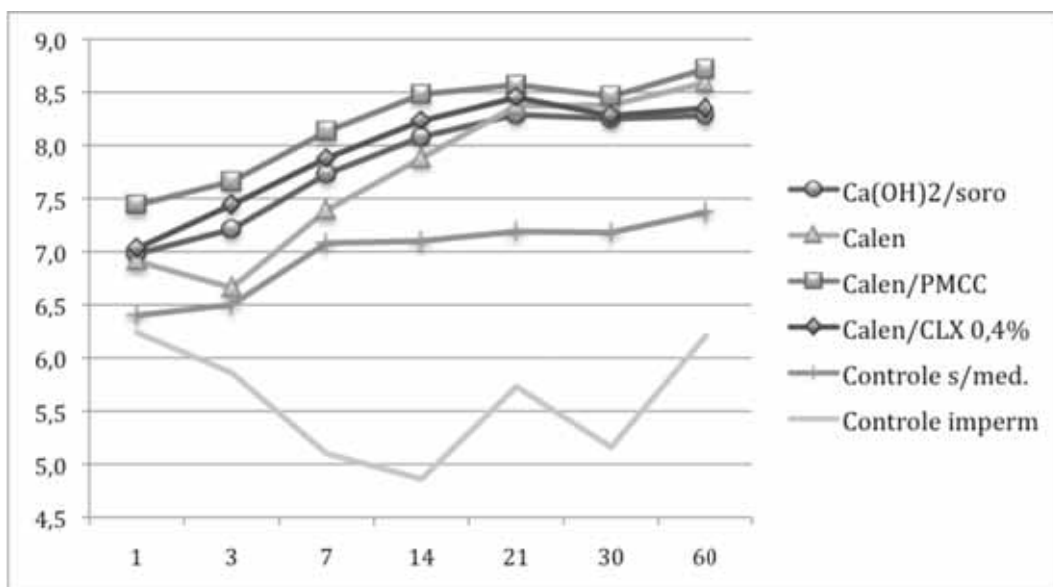


FIGURA 5. Médias de pH dos grupos experimentais em todos os períodos.



A associação  $\text{Ca(OH)}_2$ /soro (Grupo 1) apresentou valores crescentes de pH até o período de 14 dias, tornando-se semelhante nos períodos de 21, 30 e 60 dias (FIGURA 5).

O Grupo 3 (Calen/PMCC) apresentou valores mais altos de pH durante todo o período experimental. Porém, estatisticamente, apresentou resultados semelhantes a outros grupos em períodos distintos, conforme Tabela 1.

TABELA 1. Comparação dos valores de pH das medicações em diferentes períodos (Médias e desvios-padrão).

Dias	$\text{Ca(OH)}_2$ /soro	Calen	Calen/PMCC	Calen/CLX 0,4%
1	6,98 (0,30) <sup>B,c</sup>	6,91 (0,10) <sup>B,d</sup>	7,44 (0,13) <sup>A,c</sup>	7,03 (0,21) <sup>B,d</sup>
3	7,20 (0,18) <sup>B,c</sup>	6,66 (0,48) <sup>C,d</sup>	7,66 (0,29) <sup>A,c</sup>	7,44 (0,22) <sup>AB,c</sup>
7	7,73 (0,18) <sup>AB,b</sup>	7,39 (0,37) <sup>B,c</sup>	8,13 (0,34) <sup>A,b</sup>	7,88 (0,30) <sup>A,b</sup>
14	8,08 (0,38) <sup>AB,ab</sup>	7,88 (0,47) <sup>B,b</sup>	8,48 (0,14) <sup>A,a</sup>	8,23 (0,32) <sup>AB,ab</sup>
21	8,29 (0,20) <sup>B,a</sup>	8,37 (0,20) <sup>AB,a</sup>	8,57 (0,12) <sup>A,a</sup>	8,45 (0,22) <sup>AB,a</sup>
30	8,25 (0,20) <sup>A,a</sup>	8,38 (0,29) <sup>A,a</sup>	8,46 (0,21) <sup>A,a</sup>	8,28 (0,26) <sup>A,a</sup>
60	8,28 (0,39) <sup>B,a</sup>	8,59 (0,20) <sup>AB,a</sup>	8,72 (0,16) <sup>A,a</sup>	8,35 (0,32) <sup>B,a</sup>

Letras iguais apresentam médias estatisticamente não diferentes. Letras maiúsculas para comparações entre grupos e minúsculas para os períodos.

Aos 60 dias, os maiores valores de pH foram observados para as pastas Calen/PMCC e Calen, seguidos pela pasta Calen/CLX 0,4% (Tabela 1).

## DISCUSSÃO

A elevação do pH proporcionada pela liberação de íons  $\text{OH}^-$  de pastas à base de  $\text{Ca(OH)}_2$  é importante para sua atuação como medicação intracanal em dentes com necrose pulpar (22). Haapasalo et al. (23) mostraram que o  $\text{Ca(OH)}_2$  pode ser inativado pela dentina por causa da sua capacidade tampão. No presente

estudo, todas as pastas à base de  $\text{Ca(OH)}_2$  avaliadas promoveram alcalinização da massa dentinária radicular, elevando os valores de pH, concordando com outros estudos (21, 24-26).

Para Pacios et al. (27), os veículos e substâncias adicionados ao  $\text{Ca(OH)}_2$  podem influenciar sua capacidade de liberação de íons. Neste estudo, ocorreu aumento significativo do pH a partir de 3 dias até os 14 dias, exceto para o Grupo 2 (Calen), que apresentou aumento significativo até os 21 dias. A associação  $\text{Ca(OH)}_2$ /soro (Grupo 1) proporcionou valores crescentes de pH até o período de 14 dias, tornando-se semelhante nos períodos de 21, 30 e 60 dias. Isto pode estar relacionado à diminuição dos íons  $\text{OH}^-$  disponíveis, que ocorre para veículos aquosos, os quais proporcionam dissociação iônica mais rápida (21).

O Grupo 3 (Calen/PMCC) manteve-se sempre com os valores mais altos de pH durante todo o período experimental, embora, estatisticamente, semelhante a outros grupos em períodos distintos, concordando com Camargo et al. (21). Segundo estes autores, a liberação iônica desta pasta ocorre provavelmente devido à formação do sal paraclorofenolato de cálcio que promove uma liberação contínua e uma ação estável do  $\text{Ca(OH)}_2$ . Simon et al. (28), estudaram os efeitos no pH e liberação de íons cálcio de quatro veículos associados ao  $\text{Ca(OH)}_2$ : água destilada, soro, PMCC e propilenoglicol e também verificaram valores maiores para o PMCC. Cabe ressaltar que na pasta Calen/PMCC o veículo é o polietilenoglicol, sendo acrescida pequena quantidade de PMCC para aumento da atividade antimicrobiana da pasta. Esberard et al. (26),

compararam alterações de pH nos curativos  $\text{Ca(OH)}_2/\text{PMCC}$  e  $\text{Ca(OH)}_2/\text{veículo aquoso}$  – Pulpdent), encontrando melhores resultados para o PMCC.

Aos 60 dias, os maiores valores de pH foram observados para as pastas Calen/PMCC e Calen, seguidos pela pasta Calen/CLX a 0,4%. Estes resultados podem estar relacionados á melhor consistência das pastas que contém veículo viscoso (polietilenoglicol 400), resultando em melhor contato da pasta com as paredes dentinárias, promovendo melhor preenchimento do canal radicular e conseqüentemente liberação iônica (26). Além disto, este veículo permite liberação de íons por um período mais longo, resultando em melhor ação antibacteriana (2).

A razão para a associação do  $\text{Ca(OH)}_2/\text{CLX}$  é o possível efeito antimicrobiano sinérgico (19, 20) levando a benefícios para o tratamento endodôntico. A escolha da concentração da CLX adicionada a pasta Calen foi baseada no trabalho de Silva et al. (29), que mostrou que a adição de CLX a 0,4% a esta pasta não afetou a progressão das culturas de células osteogênicas, permitindo a formação de nódulos mineralizados in vitro.

Existem poucos estudos dos efeitos da CLX nos valores de pH do  $\text{Ca(OH)}_2$ . Basrani et al. (30) avaliaram as propriedades físicas e químicas da CLX e medicamentos contendo  $\text{Ca(OH)}_2$  e CLX, e observaram que a presença da CLX não altera o pH do  $\text{Ca(OH)}_2$ , concordando com Souza Filho et al. (16), Yücel et al (31) e Freire et al. (32). Porém, estes estudos observaram o pH das medicações por um curto período de tempo. No presente estudo, a pasta Calen/CLX a 0,4% apresentou valores crescentes de pH a partir dos 3 dias, sendo maiores que o

Calen aos 7 dias, e sem diferença estatisticamente significante nos períodos subseqüentes.

Considerando os períodos de avaliação, todos os grupos experimentais apresentaram pH alcalino, mostrando que as pastas à base de  $\text{Ca(OH)}_2$ , independente do veículo, mantiveram a dissociação iônica. Esberard et al. (26) observaram que as pastas  $\text{Ca(OH)}_2$ /PMCC e Pulpdent, apresentaram aumento do pH na superfície radicular e este se manteve, por até 120 dias.

O estudo foi realizado em dentes bovinos conforme Camargo et al. (21), que demonstraram que a metodologia é viável para avaliação de alteração de pH na dentina. Schmalz et al. (33) analisaram in vitro as características de permeabilidade da dentina de dentes de humanos e bovinos e verificaram que estes tipos de dentes podem ser considerados similares.

Neste estudo, as diferentes composições de pastas à base de  $\text{Ca(OH)}_2$  proporcionaram difusão de íons  $\text{OH}^-$  pela dentina radicular, concluindo que a adição de PMCC ou CLX não altera a capacidade de liberação e difusão de íons hidroxila de pastas à base de  $\text{Ca(OH)}_2$ .

## REFERÊNCIAS

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulp in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med and Oral Pathol* 1965;20:340-9.
2. Tanomaru-Filho M, Leonardo MR, Silva LA, Aníbal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *Int Endod J* 2002;35:735-9.
3. Leonardo MR, da Silva LA, Tanomaru Filho M, Bonifacio KC, Ito IY. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. *J Endod* 2000;26:391-4.
4. Manzur A, González AM, Pozos A, Silva-Herzog D, Friedman S. Bacterial quantification in teeth with apical periodontitis related to instrumentation and different intracanal medications: a randomized clinical trial. *J Endod* 2007;33:114-8.
5. Allard U, Stromberg U, Stromberg T. Endodontic treatment of experimentally induced apical periodontitis in dogs. *Endod Dent Traumatol* 1987;3:240-4.
6. Leonardo MR, Hernandez ME, Silva LA, Tanomaru-Filho M. Effect of a calcium hydroxide-based root canal dressing on periapical repair in dogs: a histological study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:680-5.

7. Lu Y, Liu T, Li X, Li H, Pi G. Histologic evaluation of direct pulp capping with a self-etching adhesive and calcium hydroxide in beagles. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:e78-84.
8. Hasselgren G, Olsson B, Cvek M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. *J Endod* 1988;14:125-7.
9. Fuss Z, Rafaeloff R, Tagger M, Szajkis S. Intracanal pH changes of calcium hydroxide pastes exposed to carbon dioxide in vitro. *J Endod* 1996;22:362-4.
10. Buck RA, Cai J, Eleazer PD, Staat RH, Hurst HE. Detoxification of endotoxin by endodontic irrigants and calcium hydroxide. *J Endod* 2001;27:325-7.
11. Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J* 2003;36:733-9.
12. Siqueira Jr JF, Lopes HP. Medicação intracanal In: Lopes HP, Siqueira Jr JF. *Endodontia - Biologia e técnica*. 2º Ed. 2004 Guanabara Koogan Rio de Janeiro 581-618.
13. Camões ICG, Salles MR, Cheviatarese O, Gomes GC. Influence on pH of vehicle containing glycerin used with calcium hydroxide. *Dent Traumatol* 2003;19:132-8.
14. Solak H, Oztan MD. The pH changes of four different calcium hydroxide mixtures used for intracanal medication. *J Oral Rehabil* 2003;30:436-9.

15. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Rosalen PL, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms. *Braz Dent J* 2002;13:155-61.
16. Souza-Filho FJ, Soares AJ, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CCR, Gomes BPFA. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. *Braz Dent J* 2008;19:28-33.
17. Neelakantan P, Sanjeev K, Subbarao CV. Duration-dependent susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide and chlorhexidine gel used as intracanal medicament: an in vitro evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;104:e138-41.
18. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod* 2004;30:785-7.
19. Haenni S, Schmidlin PR, Mueller B, Sener B, Zehnder M. Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. *Int Endod J* 2003;36:100-5.
20. Soares JA, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Ito IY. Residual antibacterial activity of chlorhexidine digluconate and camphorated p-monochlorophenol in calcium hydroxide-based root canal dressings. *Braz Dent J* 2007;18:8-15.
21. Camargo CHR, Bernardineli N, Valera MC, de Carvalho CAT, Oliveira LD, Menezes MM, Afonso SE, Mancini MNG. Vehicle influence on

- calcium hydroxide pastes diffusion in human and bovine teeth. *Dent Traumatol* 2006;22:302–6.
22. Zampronio CF, Sivieri-Araújo G, Bonetti-Filho I, Berbert FLCV. pH changes after manual or ultrasonic instrumentation and smear layer removal with EDTA or ultrasonic. *Dent Traumatol* 2008;24:542–5.
23. Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TM, Orstavik D, Haapasalo MP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J* 2000;33:126–31.
24. Chamberlain TM, Kirkpatrick TC, Rutledge RE. pH changes in external root surface cavities after calcium hydroxide is placed at 1, 3 and 5 mm short of the radiographic apex. *Dent Traumatol* 2009;25:470–4.
25. Nerwich A, Figdor D, Messer HH. pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod*. 1993;19:302-6.
26. Esberard RM, Carnes DL Jr, Del Rio CE. Changes in pH at the dentin surface in roots obturated with calcium hydroxide pastes. *J Endod* 1996;22:402–5.
27. Pacios MG, de la Casa ML, de Bulacio MA, López ME. Influence of different vehicles on the pH of calcium hydroxide pastes. *J Oral Sci* 2004;46:107-11.
28. Simon ST, Bhat KS, Francis R. Effect of four vehicles on the pH of calcium hydroxide and release of calcium ion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995;80:459–64.



29. Silva RAB, Leonardo MR, Silva LAB, Castro LMS, Rosa AL, Oliveira PT. Effects of the association between a calcium hydroxide paste and 0.4% chlorhexidine on the development of the osteogenic phenotype in vitro. *J Endod* 2008;34:1485–9.
30. Basrani B, Ghanem A, Tjäderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. *J Endod* 2004;30:413–7.
31. Yücel AC, Aksoy A, Ertas E, Güvenç D. The pH changes of calcium hydroxide mixed with six different vehicles. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103:712-7.
32. Freire LG, Carvalho CN, Ferrari PHP, Siqueira EL, Gavini G. Influence of dentin on pH of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone or in combination. *Dent Traumatol* 2010;26:276–80.
33. Schmalz G, Hiller KA, Nunez LJ, Stoll J, Weis K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. *J Endod* 2001;27:23–30.

**EFICÁCIA ANTIBACTERIANA DE MEDICAÇÕES  
INTRACANAL À BASE DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO  
FRENTE A *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

***Capítulo 2***

---

Artigo a ser submetido para publicação no periódico *Journal of Endodontics*

## RESUMO

**Introdução:** Este estudo teve como objetivo avaliar e comparar o efeito antibacteriano de pastas à base de hidróxido de cálcio em canais radiculares infectados com *Enterococcus faecalis*. **Métodos:** Foram utilizados 106 dentes de humanos unirradiculados extraídos. As coroas foram removidas, os canais radiculares preparados e a superfície radicular externa impermeabilizada com adesivo epóxi, exceto a região da abertura cervical. Após montagem em placas de cultura celular e esterilização, os dentes foram contaminados com *E. faecalis* e incubados por 21 dias. Em seguida, após confirmação da contaminação, as placas foram divididas de acordo com a medicação intracanal e o período em: G1-Calén (7 dias); G2-Calén (14 dias); G3-Calén/PMCC (7 dias); G4-Calén/PMCC (14 dias); G5-Calén/Clorexidina (CLX) a 0,4% (7 dias); G6-Calén/CLX a 0,4% (14 dias); G7-Calén/CLX a 1% (7 dias); G8-Calén/CLX a 1% (14 dias); G9-Com preparo biomecânico sem medicação e G10-Sem preparo biomecânico e sem medicação. Amostras bacterianas foram coletadas imediatamente após a remoção da medicação intracanal e 7 dias após a remoção desta, com pontas de papel esterilizadas. O crescimento bacteriano foi determinado pela contagem de UFC/mL. **Resultados:** Foi observado que, para todas as medicações analisadas, houve ausência de *E. faecalis* logo após a remoção das medicações estudadas. Porém, todos os espécimes apresentaram aumento de UFC/mL após sete dias da remoção destas. Na coleta final, as pastas Calén/PMCC e Calén/CLX a 0,4% e a 1% apresentaram menores números de UFC/mL que a pasta Calén. **Conclusões:**

As medicações intracanal à base de hidróxido de cálcio foram capazes de diminuir significativamente, mas não eliminar completamente *E. faecalis* do sistema de canais radiculares.

**Palavras-chave:** Endodontia, *Enterococcus faecalis*, hidróxido de cálcio.

## INTRODUÇÃO

O microrganismos representam o agente etiológico primário no desenvolvimento de lesões periapicais (1). Desta forma, o objetivo fundamental do tratamento endodôntico, nos casos de dentes com necrose pulpar e lesão periapical, é a eliminação da microbiota endodôntica no sistema de canais radiculares. O preparo biomecânico do canal radicular reduz significativamente a infecção endodôntica. Entretanto, alguns microrganismos podem sobreviver nas complexidades anatômicas e sistema de canais radiculares (2, 3).

A medicação intracanal antimicrobiana é necessária para complementar a desinfecção do sistema de canais e túbulos dentinários (2, 4, 5). O hidróxido de cálcio ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) tem sido amplamente utilizado devido ao seu potencial biológico, ação antimicrobiana principalmente contra anaeróbios Gram-negativos, capacidade de inativar os efeitos da endotoxina bacteriana (6, 7) e capacidade em dissolver tecido orgânico (8). Além disto, age como barreira física, prevenindo a reinfecção do canal radicular e interrompendo o suprimento alimentar para microrganismos remanescentes ao tratamento (3). A sua efetividade contra microrganismos localizados dentro dos túbulos dentinários depende da difusão de íons hidroxila ( $\text{OH}^-$ ), pela dentina, em concentrações suficientes para exceder a capacidade tampão desta, alcançando níveis de pH adequados para destruir bactérias (3, 9).

Apesar de suas excelentes propriedades, o  $\text{Ca(OH)}_2$  não é igualmente efetivo contra todos os microrganismos encontrados no canal radicular. Vários estudos relatam a dificuldade do  $\text{Ca(OH)}_2$  de atuar frente a *Enterococcus faecalis*,

uma bactéria que tem sido isolada de dentes com insucesso na terapia endodôntica e que apresenta resistência a uma ampla variedade de agentes antimicrobianos, devido a diversos mecanismos de defesa (10, 11).

Com o intuito de ampliar a ação bactericida do  $\text{Ca(OH)}_2$ , tornando-o mais eficaz para o combate à infecção do canal radicular, tem sido sugerida sua associação com outros agentes antimicrobianos, como o paramonoclorofenol canforado (PMCC) (3, 12, 13) e a clorexidina (CLX) (14, 15).

O  $\text{Ca(OH)}_2$  associado ao PMCC, além de ampla ação contra microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, resulta na formação de paramonoclorofenolato de cálcio, que permite uma liberação controlada e prolongada de íons cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e  $\text{OH}^-$  (16).

A CLX é um potente antisséptico, com amplo espectro antimicrobiano e substantividade (17-19). Desta forma, a associação  $\text{Ca(OH)}_2/\text{CLX}$  vem sendo pesquisada pelo possível sinergismo positivo entre estas substâncias, aumentando a ação anti-bacteriana do  $\text{Ca(OH)}_2$  (14, 15, 20). Porém, alguns autores afirmam que não há aumento da eficácia da pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$ , quando a CLX é associada, e que o veículo com que o  $\text{Ca(OH)}_2$  é misturado, pode afetar suas propriedades, aplicações e efetividade clínica (17, 18).

Devido à patogenicidade e os mecanismos de resistência de *E. faecalis* nas infecções endodônticas persistentes, este estudo visa avaliar a eficácia de medicações intracanal na eliminação desta bactéria.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Padronização dos espécimes**

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (ANEXO A). Cento e seis dentes unirradiculados humanos com canal radicular único e reto, recentemente extraídos foram selecionados. Os mesmos foram descontaminados inicialmente em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% durante 24 horas e após várias lavagens em água destilada foram armazenados sob refrigeração. As coroas dentais foram seccionadas em máquina de corte de precisão Isomet 1000 (Buehler Ltda, Lake Bluff, IL, EUA), padronizando o tamanho dos espécimes em 15 mm.

O diâmetro foraminal foi padronizado instrumentando o canal radicular 0,5 mm além do forame apical, até a lima tipo K #25 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça). Em seguida, os canais foram instrumentados 1 mm aquém do ápice radicular até a lima tipo K #50. A irrigação foi realizada com 2 mL de NaOCl a 1% (Instituto de Química, Araraquara, UNESP, Brasil), a cada troca de lima, com auxílio de seringa de 5 mL (Injex, Ourinhos, SP, Brasil) com agulha Endo-Eze Tips 30 G (Ultradent Products, South Jordan, UT, EUA). Após a instrumentação, os canais foram inundados com solução de EDTA 17% (Odahcam Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil), agitada com a lima memória, por 3 minutos e receberam irrigação final com 5 mL de solução salina fisiológica. Os

dentes foram submetidos à lavagens, com solução fisiológica, para remoção do excesso de NaOCl.

Posteriormente, foi realizado o vedamento da região apical radicular com resina composta fotopolimerizável Opallis (FGM Produtos Odontológicos Ltda, Joinville, SC, Brasil) e as superfícies radiculares foram impermeabilizadas externamente com duas camadas de adesivo epóxi Araldite (Brascola Ltda, Taboão da Serra, SP, Brasil), exceto a região da abertura cervical.

Os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em dez microplacas de cultura celular de 24 poços (Corning Incorporated, Corning, NY, EUA), sendo oito delas com 12 dentes em cada (APÊNDICE B - FIGURA B1) e duas microplacas controle com cinco dentes, fixados nos poços externos com resina acrílica quimicamente ativada (Clássico Artigos Odontológicos, São Paulo, SP, Brasil). Estas microplacas foram embaladas e submetidas à esterilização por óxido de etileno (Acecil, Campinas, SP, Brasil).

### **Contaminação com *E. faecalis***

Os procedimentos microbiológicos foram realizados em ambiente asséptico, dentro de câmara de fluxo laminar (VecoFlow Ltda, Campinas, SP, Brasil). Culturas puras de *E. faecalis* (ATCC 29212) foram reativadas em *Tryptic Soy Broth* - TSb (Difco, Detroit, MI, EUA) por 48 horas. As bactérias foram inoculadas em placas de *Tryptic Soy ágar* - TSa (Difco, Detroit, MI, EUA) e incubadas em microaerofilia a 37°C por outras 48 horas. Uma suspensão bacteriana foi preparada em solução fisiológica esterilizada e sua densidade óptica



ajustada em espectrofotômetro, (Modelo 600 Plus, Femto, São Paulo, SP, Brasil) no comprimento de onda de 600 nm e absorvância de 0,025 (aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL).

O meio de cultura (TSb) foi misturado com a suspensão bacteriana na proporção de 1:1 e os canais radiculares foram contaminados, por meio de micropipetas, com 10  $\mu$ L desta mistura. Uma mecha de algodão esterilizada foi umedecida em TSb e colocada na entrada dos canais radiculares. As microplacas contendo os espécimes foram mantidas em ambiente microaerófilo a 37°C e umidade relativa. O período de contaminação foi de 21 dias, sendo adicionado TSb esterilizado no interior dos canais radiculares a cada dois dias, utilizando seringa de insulina de 0,5 mL (Becton Dickinson, Curitiba, PR, Brasil).

Após este período, foi realizada coleta de todos os canais radiculares para a confirmação da contaminação (coleta inicial). Foram utilizados dois cones de papel absorvente esterilizados #50 (Tanari Industrial Ltda, São Paulo, SP, Brasil) por espécime, mantidos nos canais radiculares por 1 minuto e transferidos para tubos teste (Eppendorf) contendo 1 mL de solução fisiológica esterilizada. Os tubos foram agitados por 30 segundos (Vortex AP 56, Phoenix, Araraquara, SP, Brasil). A seguir, foram realizadas diluições decimais seriadas e alíquotas de 20  $\mu$ L foram semeadas em triplicata em placas de Petri contendo meio TSa (APÊNDICE B - FIGURA B2). As placas foram incubadas em microaerofilia a 37°C por 48 horas. O crescimento bacteriano foi determinado pela contagem do número de UFC/mL de *E. faecalis* (APÊNDICE B - FIGURA B3).

### Divisão dos grupos experimentais

As microplacas contendo as raízes fixadas foram aleatoriamente divididas de acordo com a medicação e o período de ação utilizados (Tabela 1).

TABELA 1. Grupos experimentais e controle com os respectivos períodos experimentais e número de espécimes

<b>Grupo</b>	<b>Medicação</b>	<b>Período</b>	<b>Número de Dentes</b>
<b>1</b>	Calen	7 dias	12
<b>2</b>	Calen	14 dias	12
<b>3</b>	Calen/PMCC	7 dias	12
<b>4</b>	Calen/PMCC	14 dias	12
<b>5</b>	Calen/CLX (0,4%)	7 dias	12
<b>6</b>	Calen/CLX (0,4%)	14 dias	12
<b>7</b>	Calen/CLX (1%)	7 dias	12
<b>8</b>	Calen/CLX (1%)	14 dias	12
<b>9 (controle)</b>	Nenhuma (com preparo)	-	5
<b>10 (controle)</b>	Nenhuma (sem preparo)	-	5

Nos grupos experimentais (de 1 a 8), depois de constatada a contaminação, os canais foram reinstrumentados, inicialmente com o instrumento foraminal (lima K #25), no comprimento real do dente, e em seguida com lima K #50, no comprimento real de trabalho, sendo irrigados com solução salina fisiológica esterilizada. Os canais foram inundados com solução de EDTA 17%, por 3 minutos, irrigados com 5 mL de solução salina fisiológica esterilizada, secos com pontas de papel esterilizadas, de diâmetro 50, e preenchidos com as medicações intracanal descritas a seguir:

- Pasta Calen (S.S.White Art. Dent. Ltda; RJ, RJ, Brasil), composta de  $\text{Ca(OH)}_2$ , óxido de zinco, colofônia, e polietilenoglicol (PEG) 400.

- Pasta Calen/PMCC (S.S.White Art. Dent. Ltda; RJ, RJ, Brasil), composta de  $\text{Ca(OH)}_2$ , óxido de zinco, colofônia, PEG 400, e PMCC.
- Pasta Calen/CLX, composta de Calen (S. S. White Art. Dent. Ltda, RJ, Brasil) associada a solução de gluconato de clorexidina (Arte & Ciência, Araraquara, Brasil) nas concentrações de 0,4% e 1% do total da pasta.

As pastas Calen/CLX foram manipuladas 24 horas antes de sua aplicação, no interior da câmara de fluxo laminar, valendo-se de balança de precisão (OHAUS<sup>®</sup>, São Bernardo do Campo, SP, Brasil) e inseridas em tubetes anestésicos previamente esterilizados.

No Grupo 9, os canais foram reinstrumentados, como nos grupos experimentais, e não receberam medicação intracanal, sendo preenchidos com solução salina fisiológica esterilizada. No grupo 10, os dentes não foram reinstrumentados, nem receberam medicação intracanal, sendo preenchidos com solução salina fisiológica esterilizada.

As pastas foram colocadas no interior dos canais com seringa endodôntica ML (S.S.White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) munida de agulha Septojet XL longa (Septodont Brasil Ltda, Barueri, SP, Brasil), preenchendo toda a extensão dos canais radiculares. Em seguida, uma mecha de algodão esterilizada foi adaptada nas entradas dos canais radiculares e as raízes foram incubadas a  $37\pm 1^\circ\text{C}$  em microaerofilia, por 7 ou 14 dias, dependendo do grupo experimental, com verificação diária de umidade e temperatura. Os poços vazios do centro das microplacas foram preenchidos com água destilada esterilizada para manter a umidade das mesmas (APÊNDICE B - FIGURA B4).

### **Coletas e análise microbiológica**

Imediatamente após a remoção do curativo, foi realizada uma coleta microbiológica (coleta pós-curativo). Para tanto, a medicação intracanal foi removida com limas tipo K #50, sendo os canais irrigados com 5 mL de solução salina fisiológica esterilizada. Em seguida, foi realizada irrigação com 1 mL de neutralizante específico para cada medicamento testado, a fim de se evitar a ação residual das medicações. Posteriormente, foi utilizado 1 mL de solução salina fisiológica esterilizada como irrigação final. O canal e a superfície externa das raízes foram secas novamente, com cânula aspiradora e os canais preenchidos com solução salina fisiológica esterilizada. A coleta foi realizada seguindo os mesmos procedimentos da coleta inicial.

Por fim, os canais radiculares foram preenchidos com salina esterilizada e uma mecha de algodão estéril foi colocada na entrada dos canais radiculares. As microplacas contendo os espécimes foram fechadas e novamente incubadas em microaerofilia a 37°C e umidade relativa.

Após sete dias, outra coleta microbiológica foi realizada conforme as anteriores (coleta final). As coletas do grupo controle ocorreram após o período de contaminação e depois de sete dias. Os procedimentos experimentais estão representados no APÊNDICE B - FIGURA B5.

### **Análise estatística**

Os resultados foram submetidos à transformação logarítmica e analisados por meio do programa GraphPad Prism 3.0 (San Diego, CA, EUA). Na comparação entre os grupos experimentais, foram aplicados ANOVA e Teste de Comparações Múltiplas de Tukey. Já na comparação entre as coletas microbiológicas, dentro de cada grupo, foram utilizados ANOVA de Medidas Repetidas e Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni. O nível de significância adotado foi de 5%.

### **RESULTADOS**

A metodologia de contaminação deste estudo foi comprovada por meio da recuperação de culturas puras de *E. faecalis* em todos os dentes na coleta inicial, 21 dias após incubação dos espécimes, com contagens de UFC/mL semelhantes em todos os grupos (Tabela 2).

Os espécimes do Grupos 9 (sem medicação) e 10 (sem preparo), comprovaram a viabilidade de *E. faecalis* nas diferentes etapas do experimento, mostrando que não houve redução estatisticamente significativa no número de UFC/mL em comparação a coleta inicial (Tabela 2).

TABELA 2. Comparação entre grupos nas coletas inicial, pós-curativo e final (média e desvio-padrão de UFC/mL log).

<b>Grupo</b>	<b>Inicial</b>	<b>Pós-curativo</b>	<b>Final</b>
G1 – Calen 7 dias	6,94 (0,64) <sup>A,a</sup>	0,00 <sup>C,a</sup>	4,71 (0,43) <sup>B,b</sup>
G2 – Calen 14 dias	6,56 (0,51) <sup>A,a</sup>	0,00 <sup>C,a</sup>	4,75 (0,77) <sup>B,b</sup>
G3 – Calen/PMCC 7 dias	6,43 (0,70) <sup>A,a</sup>	0,00 <sup>C,a</sup>	3,64 (1,85) <sup>B,bce</sup>
G4 – Calen/PMCC 14 dias	6,34 (2,21) <sup>A,a</sup>	0,00 <sup>C,a</sup>	1,94 (2,03) <sup>B,cd</sup>
G5 – Calen/CLX 0,4% 7 dias	6,73 (1,03) <sup>A,a</sup>	0,00 <sup>C,a</sup>	1,41 (1,65) <sup>B,d</sup>
G6 – Calen/CLX 0,4% 14 dias	6,33 (0,42) <sup>A,a</sup>	0,00 <sup>C,a</sup>	1,53 (1,84) <sup>B,de</sup>
G7 – Calen/CLX 1,0% 7 dias	6,65 (0,55) <sup>A,a</sup>	0,00 <sup>C,a</sup>	1,37 (1,60) <sup>B,d</sup>
G8 – Calen/CLX 1,0% 14 dias	6,65 (0,78) <sup>A,a</sup>	0,00 <sup>C,a</sup>	1,28 (1,84) <sup>B,d</sup>
G9 – com preparo sem medicação	7,20 (0,76) <sup>A,a</sup>	-	5,90 (0,23) <sup>B,a</sup>
G10 – sem preparo e medicação	6,67 (0,73) <sup>A,a</sup>	-	6,29 (0,62) <sup>A,a</sup>

Letras iguais apresentam médias estatisticamente não significantes ( $P < 0,05$ ). Letras maiúsculas para comparações entre coletas e minúsculas para os grupos.

Na coleta realizada imediatamente após a remoção do curativo intracanal, foi observado que todas as medicações utilizadas eliminaram totalmente *E. faecalis* da luz do canal radicular principal, sendo semelhantes entre si e significativamente diferentes das demais coletas ( $P < 0,05$ ), conforme mostra a Tabela 2.

Na coleta final, sete dias após a remoção do curativo, houve um aumento no número de UFC/mL em todos os grupos, porém com valores estatisticamente menores que a coleta inicial (Tabela 2).

Os Grupos 1 (Calen 7 dias), 2 (Calen 14 dias) e 3 (Calen/PMCC 7 dias) apresentaram os maiores valores de UFC/mL na coleta final, com resultados semelhantes entre si e maiores que os demais grupos (Tabela 2).

Embora o Grupo 4 (Calen/PMCC 14 dias) tenha apresentado menor número de UFC/mL que o Grupo 3 (Calen/PMCC 7 dias), esta diferença não foi estatisticamente significativa ( $P>0,05$ ), conforme Tabela 2.

Os menores valores de UFC/mL foram observados para os Grupos 4 (Calen/PMCC 14 dias), 5 (Calen/CLX a 0,4% 7 dias), 6 (Calen/CLX a 0,4% 14 dias), 7 (Calen/CLX a 1% 7 dias) e 8 (Calen/CLX a 1% 14 dias), sem diferença estatisticamente significativa entre si ( $P>0,05$ ), de acordo com a Tabela 2.

## DISCUSSÃO

Várias metodologias podem ser empregadas para avaliar a atividade antimicrobiana de medicamentos endodônticos, podendo ocorrer diferenças nos resultados obtidos. Algumas metodologias permitem o contato direto das substâncias com os microrganismos, como nas técnicas de difusão em ágar ou do contato direto (17, 22, 23). A presença dos microrganismos nos túbulos dentinários torna necessária atuação por difusão pela dentina das substâncias antimicrobianas estudadas. Esta situação simula a condição encontrada em dentes com canais radiculares infectados, pois microrganismos podem estar alojados em áreas de difícil acesso para ação das medicações. Desta forma, este método foi selecionado no presente estudo, conforme proposto por Menezes et al (24).

*E. faecalis* foi escolhido como microrganismo por ser considerado como um dos mais resistentes às medicações intracanal à base de  $\text{Ca(OH)}_2$  (2, 22, 25) e está freqüentemente associado com insucessos pós-tratamento endodôntico (26, 27). Adicionalmente, sobrevive em pH elevado, variando de 9 a 11 (10, 27),

tem capacidade de sobreviver sozinho com escassez de nutrientes por longos períodos (11, 28), capacidade de colonizar fácil e rapidamente os túbulos dentinários e de aderir ao colágeno na presença de soro humano (24) e capacidade de formar biofilme (29). Além disso, *E. faecalis* é de cultivo relativamente fácil e tem sido empregado em inúmeros estudos (5, 14, 20, 22, 26, 30).

O período de contaminação dos espécimes foi estabelecido em 21 dias, pois este é o tempo necessário para que a suspensão de *E. faecalis* se difunda pelos túbulos dentinários em direção ao cemento (25). A adição de meio de cultura a cada dois dias teve o objetivo de manter as condições favoráveis para o crescimento das bactérias.

Neutralizantes específicos foram aplicados após a remoção da medicação intracanal e previamente à coleta das amostras para assegurar que nenhum vestígio da medicação fosse transferido para o meio de cultura, comprometendo o crescimento. Outro motivo da utilização dos neutralizantes foi parar a ação antimicrobiana residual que as medicações podem apresentar, interferindo na coleta final. Portanto, os resultados obtidos para cada uma das substâncias refletem apenas o período de aplicação intracanal (18, 21, 25).

As amostras bacteriológicas obtidas com pontas de papel absorventes esterilizadas recuperaram somente microrganismos presentes na luz do canal radicular, não atingindo os localizados no interior dos túbulos dentinários (24). Para eliminar esta deficiência, foi realizada uma segunda coleta, 7 dias após a remoção das medicações, verificando a permanência de microrganismos viáveis no interior dos túbulos dentinários.



Os resultados deste estudo mostraram que todas as medicações empregadas, eliminaram *E. faecalis* da luz do canal radicular, imediatamente a sua remoção. Entretanto, houve um aumento de UFC/mL sete dias após a remoção da medicação em todos os grupos, destacando a permanência da contaminação no sistema de canais radiculares.

O  $\text{Ca(OH)}_2$  tem demonstrado efetividade na desinfecção dos canais radiculares (2, 31, 32). Contudo, alguns resultados tem evidenciado eficácia antimicrobiana insuficiente do  $\text{Ca(OH)}_2$  contra *E. faecalis*, mesmo após contato prolongado entre a medicação e canal radicular (13, 14, 20, 24). Neste estudo, a pasta Calen por 7 ou 14 dias proporcionou uma redução estatisticamente significativa no número de UFC/mL na coleta final, em relação a coleta inicial. Porém, em comparação com as associações Calen/PMCC e Calen/CLX, apresentou os piores resultados, concordando com os estudos anteriormente citados.

Os resultados obtidos demonstram que o PMCC complementa a atividade do  $\text{Ca(OH)}_2$  (3, 13), sendo capaz de romper a membrana citoplasmática bacteriana, desnaturar proteínas e inativar enzimas, e em associação com o  $\text{Ca(OH)}_2$  formar paramonoclorofenolato de cálcio, que permite uma liberação controlada e prolongada de íons cálcio e hidroxila (16).

Este estudo esta de acordo com outros que demonstraram que a adição da CLX pode aumentar a atividade antimicrobiana do  $\text{Ca(OH)}_2$  e promover maior substantividade, tornando-a mais eficiente contra microrganismos resistentes, como *E. faecalis* (14, 15, 20). Para Gomes et al (30), medicamentos contendo

CLX se difundem na dentina e alcançam a superfície externa, exercendo ação antimicrobiana.

Porém, não existe um consenso na literatura sobre a concentração ideal de CLX adicionada ao  $\text{Ca(OH)}_2$ . Para o preparo da medicação adicionou-se à pasta Calen, solução de gluconato de CLX até a obtenção de pastas com duas concentrações (0,4% e 1%). A escolha das concentrações de CLX foi baseada no trabalho de Da Silva et al (33), que mostrou, em cultura de células de macrófagos, que a adição de CLX a 0,4% a esta pasta não alterou a viabilidade celular ou as propriedades anti-inflamatórias e de imunoestimulação da pasta. Além disto, Silva et al (34), avaliando a resposta do tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos, frente a pastas à base de  $\text{Ca(OH)}_2$  associadas a CLX, concluíram que a adição de CLX a 0,4% à pasta Calen permitiu adequada resposta tecidual, enquanto o  $\text{Ca(OH)}_2$  associado à CLX a 2% (UltraCal<sup>TM</sup>) evidenciou resultados insatisfatórios. No presente estudo, a capacidade antibacteriana contra *E. faecalis* da associação Calen/CLX a 0,4% e Calen/CLX a 1% foi estatisticamente semelhante, sugerindo a utilização da solução de CLX menos concentrada, pois proporciona uma atividade antibacteriana satisfatória, sem alterar as propriedades biológicas do  $\text{Ca(OH)}_2$ .

Segundo Gomes et al (23), o tempo necessário para o  $\text{Ca(OH)}_2$  desinfetar eficientemente o canal radicular ainda é desconhecido e pode estar relacionado ao tipo de microrganismo envolvido, localização destes no sistema de canais radiculares, presença ou ausência de smear layer e presença ou ausência de exsudato do canal radicular. Para Sjørgen et al (32), o período necessário para o

Ca(OH)<sub>2</sub> eliminar eficientemente bactérias que podem sobreviver ao preparo biomecânico é de, pelo menos, 7 dias. Outros estudos mostram que períodos inferiores a 14 dias não devem ser indicados para o Ca(OH)<sub>2</sub>, como curativo de demora, no tratamento de dentes com necrose pulpar e reação periapical crônica (8, 35).

Segundo Lana et al (5), o polietilenoglicol 400 contido na pasta Calen/PMCC permite uma liberação mais lenta da medicação proporcionando uma pasta menos ativa nos períodos iniciais no interior do sistema de canais radiculares, sendo mais efetiva quando mantida por, pelo menos, 14 dias. No presente estudo, o período de utilização da medicação intracanal não influenciou os resultados. Embora a pasta Calen/PMCC tenha apresentado um menor número de UFC/mL aos 14 dias, a diferença para os 7 dias não foi estatisticamente significativa.

Comparando os grupos que receberam medicação intracanal com os que não receberam medicação, pode-se observar, pela redução significativa da contagem bacteriana final, que esta etapa do tratamento endodôntico pode exercer papel fundamental como auxiliar na desinfecção do sistema de canais radiculares. Assim, de acordo com a metodologia utilizada, pode-se concluir que as associações Calen/PMCC e Calen/CLX são mais efetivas que o Calen contra *E. faecalis* inoculados no canal radicular.

**REFERÊNCIAS**

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effect of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;20:340-9.
2. Byström A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* 1985;1:170-5.
3. Siqueira Jr JF, Magalhães KM, Rôças IN. Bacterial reduction in infected root canals treated with 2.5% NaOCl as an irrigant and calcium hydroxide/camphorated paramonochlorophenol paste as an intracanal dressing. *J Endod* 2007;33:667–72.
4. Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LAB. Effect of irrigating solution and calcium hydroxide root canal dressing on the repair of apical and periapical tissues of teeth with periapical lesion. *J Endod* 2002;28:295-9.
5. Lana PEP, Scelza MFZ, Silva LE, Mattos-Guaraldi AL, Hirata-Júnior R. Antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes on *Enterococcus faecalis* cultivated in root canal systems. *Braz Dent J* 2009;20:32-6.
6. Safavi KE, Nichols FC. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J Endod* 1994; 20:127-9.

7. Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J* 2003;36:733-9.
8. Nerwich A, Figdor D, Messer HH. pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod* 1993;19:302-6.
9. 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.
10. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J* 2002;35:221–8.
11. Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18:234–9.
12. Leonardo MR, Bezerra da Silva LA, Utrilla LS, Leonardo RT, Consolaro A. Effect of intracanal dressings on repair and apical bridging of teeth with incomplete root formation. *Endod Dent Traumatol* 1993;9:25-30.
13. Sukawat C, Srisuwan TA. Comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2002;28:102-4.

14. Almyroudi A, Mackenzie D, McHugh S, Saunders WP. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an *in vitro* study. *J Endod* 2002;28:163-7.
15. Evans MD, Baumgartner JC, Khemaleelakul S, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. *J Endod* 2003;29:338-9.
16. Leonardo MR, Hernandez MEFT, Silva LAB, Tanomaru-Filho M. Effect of a calcium hydroxide-based root canal dressing on periapical repair in dogs: a histological study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:680-5.
17. Ballal V, Kundabala M, Acharya S, Ballal M. Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. *Aust Dent J* 2007;52:118-21.
18. Gomes BPFA, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. *Int Endod J* 2003;36:267-75.
19. Saif S, Carey CM, Tordik PA, McClanahan SB. Effect of irrigants and cementum injury on diffusion of hydroxyl ions through the dentinal tubules. *J Endod* 2008;34:50-2.
20. Delgado RJ, DDS, Gasparoto TH, Sipert CR, Pinheiro CR, Moraes IG, Garcia RB, DDS, Bramante CM, Campanelli AP, Bernardineli N. Antimicrobial effects of calcium hydroxide and chlorhexidine on

*Enterococcus faecalis*. J Endod 2010;36:1389-93.

21. Lee Y, Han SH, Hong S-H, Lee J-K, Ji H, Kum K-Y. Antimicrobial efficacy of a polymeric chlorhexidine release device using in vitro model of *Enterococcus faecalis* dentinal tubule infection. J Endod 2008;34:855–8.
22. Basrani B, Tjäderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, Friedman S. Efficacy of chlorhexidine- and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2003;96:618-24.
23. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Rosalen PL, Zaia AA, Teixeira FB, et al. *In Vitro* antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms. Braz Dent J 2002;13:155-61.
24. Menezes MM, Valera MC, Jorge AOC, Koga-Ito CY, Camargo CHR, Mancini MNG. *In vitro* evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. Int Endod J 2004;37:311-9.
25. Heling I, Steinberg D, Keni S, Gavrilovich I, Sela MN, Friedman M. Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and Ca(OH)<sub>2</sub> in preventing secondary infection of dentinal tubules. Int Endod J 1992;25:20-4.

26. Lin Y-H, Mickel AK, Chogle S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: Part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. J Endod 2003;29:565-6.
27. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod 2006;32:93-8.
28. Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. J Endod 2005;31:380-6.
29. Brändle N, Zehnder M, Weiger R, Waltimo T. Impact of growth conditions on susceptibility of five microbial species to alkaline stress. J Endod 2008;34:579-82.
30. Gomes BPFA, Montagner F, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, et al. Antimicrobial action of intracanal medicaments on the external root surface. J Dent 2009;37:76–81.
31. Manzur A, González AM, Pozos A, Silva-Herzog D, Friedman S. Bacterial quantification in teeth with apical periodontitis related to instrumentation and different intracanal medications: A randomized clinical trial. J Endod 2007;33:114–8.
32. Sjögren U, Figdor D, Spangberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. Int Endod J 1991;24:119-25.



33. Da Silva RA, Leonardo MR, da Silva LA, Faccioli LH, de Medeiros AI. Effect of a calcium hydroxide-based paste associated to chlorhexidine on RAW 264.7 macrophage cell line culture. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106:e44-51.
34. Silva RA, Assed S, Nelson-Filho P, Silva LA, Consolaro A. Subcutaneous tissue response of isogenic mice to calcium hydroxide-based pastes with chlorhexidine. *Braz Dent J* 2009;20:99-106.
35. Leonardo MR, Silveira FF, Silva LAB, Tanomaru Filho M, Utrilla LS. Calcium hydroxide root canal dressing. Histopathological evaluation of periapical repair at different time periods. *Braz Dent J* 2002;13:17-22.

## ***Considerações finais***

---

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de microrganismos no desenvolvimento da doença pulpar e periapical tem sido bem documentada<sup>27,56</sup>. Desta forma, o objetivo do tratamento endodôntico é o combate aos microrganismos presentes em canais radiculares infectados além da prevenção da reinfecção. A instrumentação destes canais com auxílio de soluções irrigadoras com potencial antimicrobiano, reduz consideravelmente o número de bactérias, porém, é impossível obter desinfecção completa do sistema de canais radiculares, em todos os casos<sup>10,44</sup>. Microrganismos residuais podem se multiplicar e afetar negativamente o reparo na região periapical, e o uso de medicação intracanal, com propriedades antimicrobianas, entre sessões, pode reduzir ou eliminar estes microrganismos no sistema de canais radiculares, elevando o índice de sucesso<sup>11, 50, 58, 64</sup>.

As dificuldades para se obter a completa desinfecção do sistema de canais radiculares, pelos protocolos de tratamento disponíveis até o momento, estimulam pesquisas endodônticas a buscar novos medicamentos e técnicas que permitam que este objetivo seja alcançado.

*E. faecalis* é um microrganismo facultativo, não-fastidioso considerado como um dos mais resistentes às medicações intracanal à base de  $\text{Ca(OH)}_2$ <sup>5,11,26</sup> e está freqüentemente associado com insucessos pós-tratamento endodôntico<sup>35,54,56</sup>. Adicionalmente, sobrevive a pH elevado, variando de 9 a 11<sup>20,54</sup>, tem capacidade de se estabelecer e sobreviver sozinho com escassez de nutrientes por longos períodos<sup>21,44</sup>, capacidade de colonizar fácil e rapidamente os

túbulos dentinários e de aderir ao colágeno na presença de soro humano<sup>29</sup> e capacidade de formar biofilme<sup>8,14,16</sup>.

O  $\text{Ca(OH)}_2$  é uma das medicações usadas como medicamento intracanal em função de sua ação antimicrobiana que pode ser relacionada ao pH fortemente alcalino, que tem um efeito destrutivo na membrana da célula bacteriana e estrutura protéica<sup>13,33</sup>. Esta ação é determinada pela liberação de íons hidroxila ( $\text{OH}^-$ ), que necessitam de um tempo ideal para a destruição efetiva dos microrganismos, agindo por contato direto ou indireto nos túbulos dentinários<sup>52</sup>. Além disto, para serem efetivos contra bactérias localizadas dentro de túbulos dentinários e canais acessórios, estes íons devem se difundir para dentro da dentina, em concentrações suficientes e exceder a capacidade tampão desta, alcançado pH alto o bastante para destruir as bactérias<sup>24,48</sup>.

Diferentes substâncias têm sido associadas ao  $\text{Ca(OH)}_2$  na tentativa de melhorar algumas de suas propriedades como radiopacidade, viscosidade, escoamento, espectro de ação antimicrobiana, velocidade de dissociação iônica e outras propriedades físico-químicas, favorecendo também as condições clínicas para seu emprego<sup>4</sup>.

Entre estas substâncias, destaca-se o PMCC, um composto com atividade bactericida, rompendo a membrana citoplasmática bacteriana, desnaturando proteínas e inativando enzimas, e em associação com o  $\text{Ca(OH)}_2$  forma paramonoclorofenolato de cálcio, que permite uma liberação controlada e prolongada de íons cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) e  $\text{OH}^-$ <sup>32</sup>. Alguns estudos mostram que o PMCC complementa a atividade do  $\text{Ca(OH)}_2$ <sup>7,50,55</sup>, concordando com nossos resultados,

em que o Calen/PMCC se mostrou mais eficaz na eliminação de *E. faecalis* que o Calen, com diferença significativa aos 14 dias.

A CLX é um agente antimicrobiano ativo do grupo das biguanidas, que tem sido pesquisado como uma nova alternativa de associação ao  $\text{Ca(OH)}_2$  no uso do curativo de demora<sup>15,64</sup>, visando aumentar sua ação antimicrobiana contra microrganismos resistentes<sup>2,19,26,47</sup>. Embora isoladamente não seja capaz de inativar o LPS bacteriano<sup>9,57</sup> e de dissolver os tecidos<sup>39,63</sup>, a clorexidina apresenta substantividade<sup>31,34,45,61</sup>, e amplo espectro de ação contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, aeróbios, anaeróbios, leveduras e fungos<sup>26,47,59</sup>.

Este estudo mostrou que a associação Calen/CLX se mostrou mais efetiva que o  $\text{Ca(OH)}_2$  contra *E. faecalis* concordando com resultados anteriores, em que a associação do  $\text{Ca(OH)}_2$  à CLX resultou em um efeito antimicrobiano sinérgico maior que o uso isolado do  $\text{Ca(OH)}_2$ <sup>19,42,60,64</sup>.

Porém, deve-se considerar que a adição de substâncias ao  $\text{Ca(OH)}_2$  para a formulação de uma pasta, que seja viável para o uso clínico, pode alterar suas propriedades, modificando o pH, interferindo na dissociação iônica do produto, na biocompatibilidade tecidual e, conseqüentemente, na propriedade anti-séptica e na capacidade indutora de tecido mineralizado<sup>12</sup>. Desta forma, a verificação do efeito da associação de diferentes substâncias na difusão do  $\text{Ca(OH)}_2$  pela massa dentinária e sistema de canais radiculares é de extrema importância para o uso clínico destes materiais.

Nossos resultados, observados no primeiro capítulo, mostraram que a adição do PMCC ou da CLX ao  $\text{Ca(OH)}_2$  não afetou sua capacidade de liberação

e dissociação de íons  $\text{OH}^-$ , pela dentina radicular, concordando com outros autores<sup>4,12,17,43,53,62</sup>.

Novos estudos devem ser conduzidos para análise da atuação destas associações frente a *E. faecalis* na forma de biofilme. Chávez de Paz et al.<sup>14</sup> observaram que bactérias isoladas de canais radiculares infectados resistem melhor em biofilmes que em culturas planctônicas. Além disto, Kishen et al.<sup>28</sup> mostraram que *E. faecalis* tem a capacidade de formar biofilme na dentina do canal radicular, e que isto pode ser um fator que contribui para a sua persistência, após o tratamento endodôntico.

Outro aspecto importante, que deve ser mais pesquisado, é a biocompatibilidade destas associações, embora tenham produzidos, em vários estudos, excelentes resultados em dentes de cães com lesões periapicais<sup>15,32,51,58</sup>, sugerindo ser clinicamente segura quando utilizadas como medicações intracanal.

## ***Referências***

---

## REFERÊNCIAS\*

1. Allard U, Stromberg U, Stromberg T. Endodontic treatment of experimentally induced apical periodontitis in dogs. *Endod Dent Traumatol.* 1987; 3:240-4.
2. Almyroudi A, Mackenzie D, McHugh S, Saunders WP. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an in vitro study. *J Endod.* 2002; 28:163-7.
3. Ballal V, Kundabala M, Acharya S, Ballal M. Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. *Aust Dent J.* 2007; 52:118-21.
4. Basrani B, Ghanem A, Tjäderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. *J Endod.* 2004; 30:413-7.
5. Basrani B, Tjäderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, et al. Efficacy of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003; 96:618-24.
7. Behnen MJ, West LA, Liewehr FR, Buxton TB, McPherson III JC. Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. *J Endod.* 2001; 27: 765-7.

---

\* Estilo Vancouver. Disponível em: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)



8. Brändle N, Zehnder M, Weiger R, Waltimo T. Impact of growth conditions on susceptibility of five microbial species to alkaline stress. *J Endod.* 2008; 34: 579-82.
9. Buck RA, Cai J, Eleazer PD, Staat RH, Hurst HE. Detoxification of endotoxin by endodontic irrigants and calcium hydroxide. *J Endod.* 2001; 27:325-7.
10. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res.* 1981; 89:321-8.
11. Byström A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol.* 1985; 1:170-5.
12. Camargo CHR, Bernardineli N, Valera MC, de Carvalho CAT, de Oliveira LD, Menezes MM, et al. Vehicle influence on calcium hydroxide pastes diffusion in human and bovine teeth. *Dent Traumatol.* 2006; 22:302-6.
13. Camões IC, Salles MR, Chevitaress O.  $\text{Ca}^{2+}$  diffusion through dentin of  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  associated with seven different vehicles. *J Endod.* 2003; 29:822-5.
14. Chávez de Paz LE, Bergenholtz G, Dahlén G, Svensäter G. Response to alkaline stress by root canal bacteria in biofilms. *Int Endod J.* 2007; 40: 344-55.

15. De Rossi A, Silva LA, Leonardo MR, Rocha LB, Rossi MA. Effect of rotary or manual instrumentation, with or without a calcium hydroxide/1% chlorhexidine intracanal dressing, on the healing of experimentally induced chronic periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005; 99:628-36.
16. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod.* 2002; 28:689–93.
17. Duarte MA, Midela RZ, Zeferino MA, Vivan RR, Weckwerth PH, Dos Santos F, et al. Evaluation of pH and calcium ion release of calcium hydroxide pastes containing different substances. *J Endod.* 2009; 35:1274-7.
18. Ercan E, Dalli M, Dülgergil ÇT. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 102:e27-31.
19. Evans MD, Baumgartner JC, Khemaleelakul S, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. *J Endod.* 2003; 29:338-9.
20. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J.* 2002; 35: 221–8.

21. Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol.* 2003; 18:234–9.
22. Gomes BPF, Montagner F, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, et al. Antimicrobial action of intracanal medicaments on the external root surface. *J Dent.* 2009; 37: 76–81.
23. Gomes BPF, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. *Int Endod J.* 2003; 36:267-75.
24. 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.
25. Haenni S, Schmidlin PR, Mueller B, Sener B, Zehnder M. Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. *Int Endod J.* 2003; 36:100-5.
26. Heling I, Steinberg D, Keni S, Gavrilovich I, Sela MN, Friedman M. Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and Ca(OH)<sub>2</sub> in preventing secondary infection of dentinal tubules. *Int Endod J.* 1992; 25: 20-4.
27. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effect of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965; 20:340-9.

28. Kishen A, George S, Kumar R. *Enterococcus faecalis*-mediated biomineralized biofilm formation on root canal dentine in vitro. J. Biomed Mater Res A. 2006; 77: 406-15.
29. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. J Endod. 2000; 26: 315-7.
30. Lana PEP, Scelza MFZ, Silva LE, Mattos-Guaraldi AL, Hirata-Júnior R. Antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes on *Enterococcus faecalis* cultivated in root canal systems. Braz Dent J. 2009; 20: 32-6.
31. Lenet BJ, Komorowski R, Lawrence HP, Friedman S. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. J Endod. 2000; 26:652-5.
32. Leonardo MR, Hernandez MEFT, Silva LAB, Tanomaru-Filho M. Effect of a calcium hydroxide-based root canal dressing on periapical repair in dogs: a histological study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006; 102:680-5.
33. Leonardo MR, da Silva LA, Tanomaru Filho M, Bonifacio KC, Ito IY. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. J Endod. 2000; 26:391-4.
34. Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonifácio KC, Ito IY. *In vivo* antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. J Endod 1999; 25:167-71.

35. Lin Y-H, Mickel AK, Chogle S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: Part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2003; 29: 565-6.
36. Love RM. *Enterococcus faecalis*: a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J. 2001; 34:399–405.
37. Lu Y, Liu T, Li X, Li H, Pi G. Histologic evaluation of direct pulp capping with a self-etching adhesive and calcium hydroxide in beagles. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006; 102:e78-84.
38. Manzur A, González AM, Pozos A, Silva-Herzog D, Friedman S. Bacterial quantification in teeth with apical periodontitis related to instrumentation and different intracanal medications: a randomized clinical trial. J Endod. 2007; 33:114–8.
39. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. J Endod. 2004; 30:785-7.
40. Nerwich A, Figdor D, Messer HH. pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. J Endod. 1993; 19:302-6.
41. Peters LB, van Winkelhoff A-J, Buijs JF, Wesselink PR. Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with periapical bone lesions. Int Endod J. 2002; 35:13-21.

42. Podbielski A, Spahr A, Haller B. Additive antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on common endodontic bacterial pathogens. *J Endod.* 2003; 29:340-5.
43. Poorni S, Revathi Miglani, Srinivasan MR, Indira R. Comparative evaluation of the surface tension and the pH of calcium hydroxide mixed with five different vehicles: an in vitro study. *Indian J Dent Res* 2009; 20:17-20.
44. Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. *J Endod.* 2005; 31: 380-6.
45. Rosenthal S, Spangberg L, Safavi K, Conn F. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 98:488-92.
46. Saif S, Carey CM, Tordik PA, McClanahan SB. Effect of irrigants and cementum injury on diffusion of hydroxyl ions through the dentinal tubules. *J Endod.* 2008; 34:50-2.
47. Schäfer E, Bössmann K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2005; 31: 53-6.
48. Siqueira Jr JF, Lopes H. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J.* 1999; 32: 361–9.

49. Siqueira Jr JF, Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod.* 1996; 22:674-6.
50. Siqueira Jr JF, Magalhães KM, Rôças IN. Bacterial reduction in infected root canals treated with 2.5% NaOCl as an irrigant and calcium hydroxide/camphorated paramonochlorophenol paste as an intracanal dressing. *J Endod.* 2007; 33:667-72.
51. Soares JA, Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru Filho M, Ito IY. Effect of rotary instrumentation and of the association of calcium hydroxide and chlorhexidine on the antiseptics of the root canal system in dogs. *Braz Oral Res.* 2006; 20:120-6.
52. Solak H, Oztan MD. The pH changes of four different calcium hydroxide mixtures used for intracanal medication. *J Oral Rehabil.* 2003; 30:436-9.
53. Souza-Filho FJ, Soares Ade J, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CC, Gomes BP. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. *Braz Dent J.* 2008; 19:28-33.
54. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* 2006; 32: 93-8.
55. Sukawat C, Srisuwan TA. Comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2002; 28:102-4.

56. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; 85: 86-93.
57. Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J.* 2003; 36:733-9.
58. Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LAB. Effect of irrigating solution and calcium hydroxide root canal dressing on the repair of apical and periapical tissues of teeth with periapical lesion. *J Endod.* 2002; 28:295-9.
59. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 97:79-84.
60. Waltimo TM, Sirén EK, Orstavik D, Haapasalo MP. Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide *in vitro*. *Int Endod J.* 1999; 32:94-8.
61. White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J Endod.* 1997; 23:229-31.
62. Yücel AC, Aksoy A, Ertas E, Güvenç D. The pH changes of calcium hydroxide mixed with six different vehicles. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 103:712-7.



63. Zehnder M, Grawehr M, Hasselgren G, Waltimo T. Tissue-dissolution capacity and dentin-disinfecting potential of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003; 96:608-13
64. Zerella JA, Fouad AF, Spangberg LSW. Effectiveness of a calcium hydroxide and chlorhexidine digluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005; 100: 756-61.

# *Apêndice*

---

APÊNDICE A - Figuras do Capítulo 1



FIGURA A1 - Impermeabilização da superfície radicular externa, exceto cavidade preparada

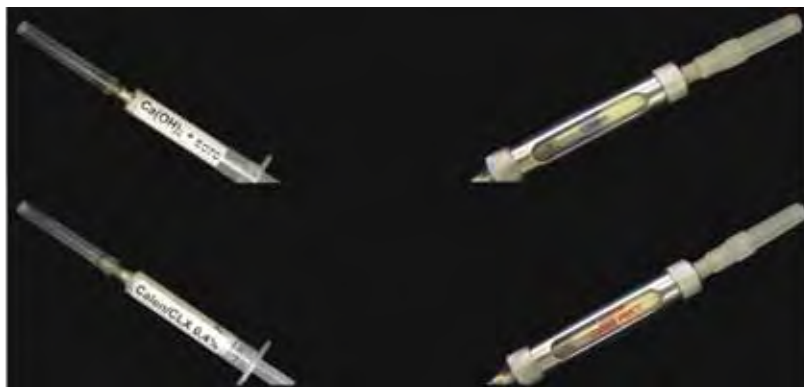


FIGURA A2 - Medicções de acordo com os grupos experimentais



FIGURAS A3 e A4 - Medição do pH

## APÊNDICE B - Figuras do Capítulo 2

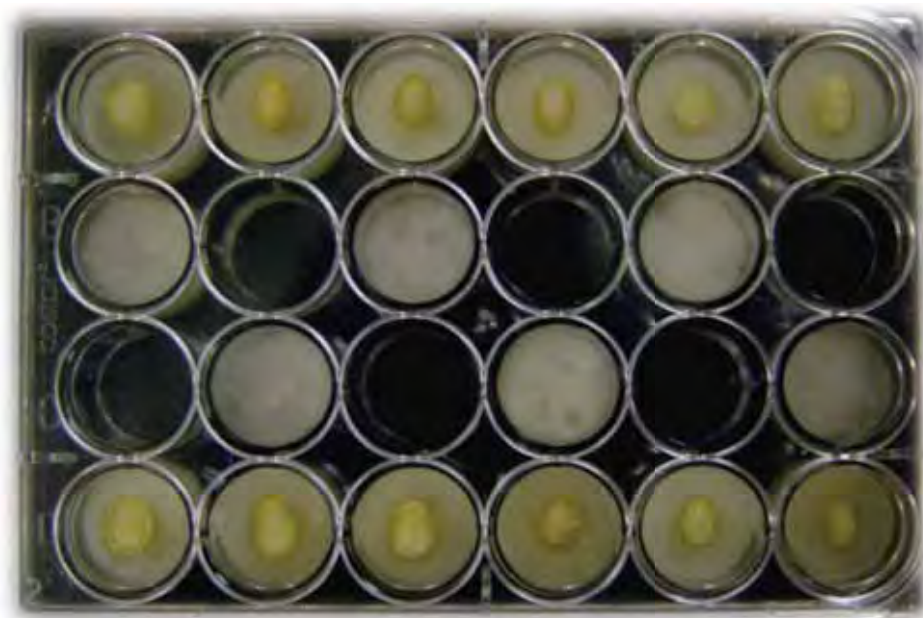


FIGURA B1 - Dentes incluídos em placa de cultura celular

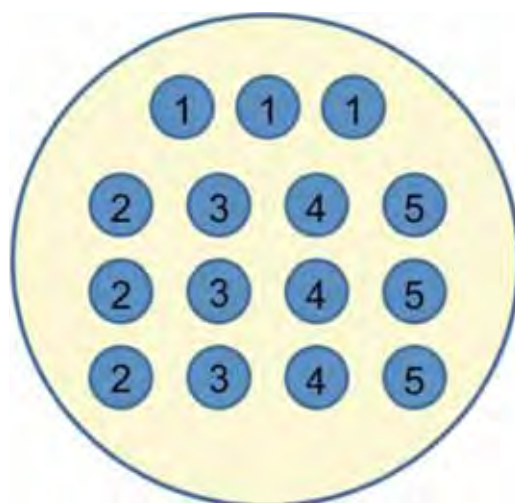


FIGURA B2 - Esquema das diluições no plaqueamento



FIGURA B3 - Crescimento bacteriano em placa de Petri



FIGURA B4- Canais radiculares preenchidos com as medicações.

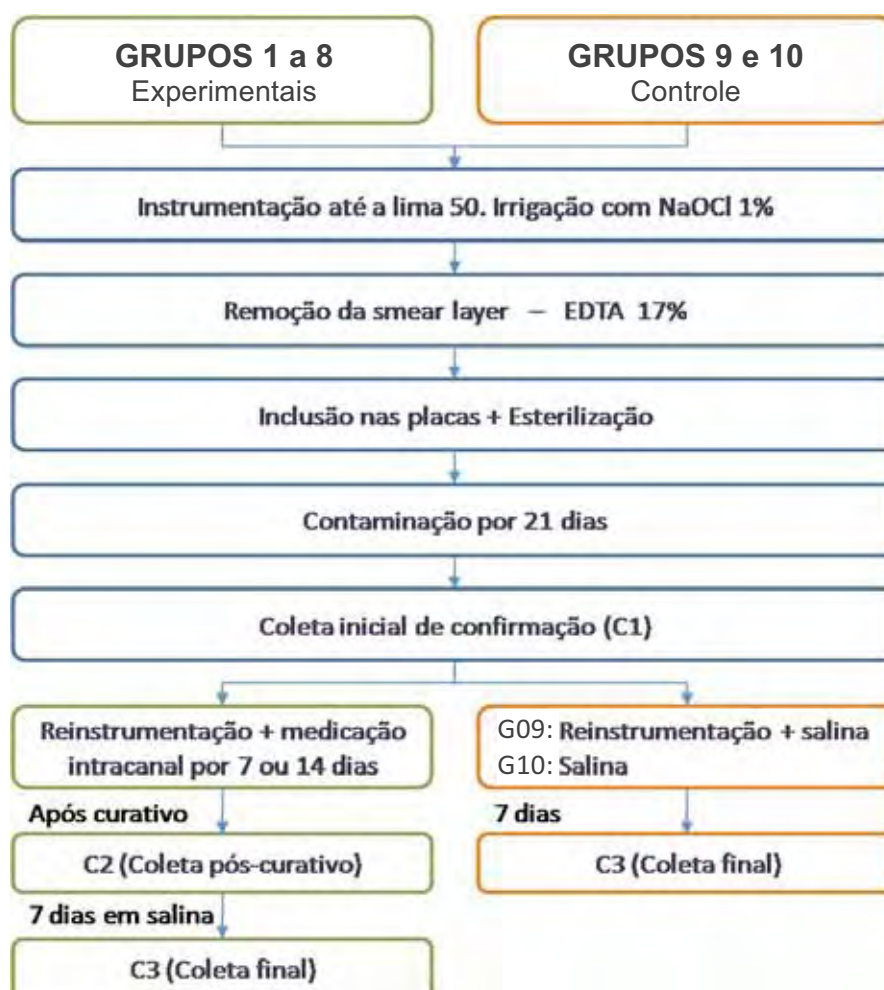


FIGURA B5 - Fluxograma da metodologia

***Anexo***

---

ANEXO A

Certificado do Comitê de Ética



Autorizo a reprodução deste trabalho.  
(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 09 de dezembro de 2010.

REGINA KARLA DE PONTES LIMA