

José Carlos Yamashita

**AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA E DA REPARAÇÃO
APICAL E PERIAPICAL APÓS PREPARO
BIOMECÂNICO DE CANAIS RADICULARES COM
DIFERENTES SOLUÇÕES IRRIGADORAS, EM
DENTES DE CÃES COM REAÇÃO PERIAPICAL
CRÔNICA**

Araraquara

2004

José Carlos Yamashita

**AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA E DA REPARAÇÃO APICAL E
PERIAPICAL APÓS PREPARO BIOMECÂNICO DE CANAIS
RADICULARES COM DIFERENTES SOLUÇÕES
IRRIGADORAS, EM DENTES DE CÃES COM REAÇÃO
PERIAPICAL CRÔNICA.**

Tese apresentada á Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “ Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Odontologia – Área de Endodontia

Orientador. **Prof Dr. Mário Tanomaru Filho**

Araraquara

2004

Yamashita, José Carlos

Avaliação da microbiota e da reparação apical e periapical após preparo biomecânico de canais radiculares com diferentes soluções irrigadoras, em dentes de cães com reação periapical crônica./José Carlos Yamashita.- Araraquara: [s.n.], 2004.

197 f.; 30 cm.

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

Orientador: Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho

1. Clorexidina. 2. Irrigantes do canal radicular. 3. Preparo de canal radicular.

Dados Curriculares

JOSÉ CARLOS YAMASHITA

NASCIMENTO	21. 05. 1964, São Paulo – SP
FILIAÇÃO	José Yamashita Megumi Yamashita
1982/1985	Curso de Graduação em Odontologia. Faculdade de Odontologia - USP, Bauru-SP
1994/1995	Curso de Especialização em Endodontia. APCD-Regional Bauru.
1997/2004	Professor Assistente das disciplinas de Endodontia e Clínica Integrada, da Faculdade de Odontologia da Universidade do Sagrado Coração, Bauru-SP.
1998/2000	Curso de Pós-Graduação em Endodontia – Mestrado. Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
2001/2004	Curso de Pós-Graduação em Endodontia – Doutorado. Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Associações: SBPqO e APCD

Todo trabalho envolve um universo muito maior que seu simples autor. Ao protagonista é necessária a participação de um número sem fim de colaboradores. A estes que direta ou indiretamente, e até aqueles que inconscientemente me auxiliaram, dedico este trabalho.

Dedico meu trabalho à **FAMÍLIA**, no mais amplo sentido desta palavra. Aquela que participa e nos incentiva desde a nossa concepção, nos encoraja nas dificuldades, nos auxilia durante as necessidades, se frustra numa derrota, mas compartilha a alegria de uma conquista. Independente dos laços de sangue, a família participou diretamente para a realização de mais um trabalho.

À **DEUS**, que muito antes de alcançarmos a maturidade para nos darmos conta, já nos acolhe, motiva e protege como filhos.

Aos meus pais, **José** e **Megumi** e meus filhos **Vitor** e **Lia**. Minhas raízes e meus frutos. Pela base sólida e retidão, ofereço a vocês esta conquista. Tento manter vivo o exemplo de luta e dedicação, transmitindo força para a próxima geração.

À minha **Renata** pelo prazer que temos em compartilhar e planejar, juntos, nossas vidas.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço ao **Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho**, que com maestria conduziu esta orientação, ofereceu-me sua amizade, paciência, experiência e compartilhou seus conhecimentos. Ao amigo Mario Tanomaru Filho agradeço a oportunidade de poder atingir minha “maioridade acadêmica”. Ao ver em você um talento expoente na endodontia, com um presente e futuro brilhantes, tenho orgulho e fico feliz por ter participado, como orientado, de sua história.

Agradeço ao **Prof. Dr. Mário Roberto Leonardo**, pela oportunidade de ingressar e compreender as prioridades de um curso de Pós-graduação. Sempre enxergaremos no Sr. a figura mítica do exemplo de pesquisador, defensor da Endodontia Biológica, incontestável por sua competência, profissionalismo e amor pleno a ciência e arte da Endodontia.

Obrigado **Prof. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva**, pelas contribuições e sugestões que foram dadas. Pelo exemplo de dedicação e competência, e ainda pela oportunidade de enxergar a importância do trabalho em equipe.

À **Profa. Dra. Izabel Yoko Ito** pelos conhecimentos compartilhados e pelo exemplo de profissional, pesquisadora e professora. Agradeço, ainda, a sua equipe técnica, do laboratório de microbiologia da Faculdade de Farmácia de Ribeirão Preto-USP, que viabilizaram o estudo microbiológico.

AGRADEÇO

Ao **Prof. Dr. Romeu Magnani** pela colaboração na análise estatística do estudo microbiológico.

Ao **Prof. Dr. Marco Antonio Hungaro Duarte** pela colaboração na análise estatística do estudo histopatológico.

Aos Profs. Drs. da Disciplina de Endodontia da FOAr. **Roberto de Miranda Esberard, Idomeo Bonetti Filho, Renato de Toledo Leonardo e Fábio Luiz de Camargo Villela Berbert**, pela atenção e ensinamentos dedicados. Agradeço ainda ao **Prof. Dr. Jaime Maurício Leal**, pelos conhecimentos e exemplo demonstrados.

Aos **Professores do curso de Pós-graduação** pela atenção dispensada, disponibilidade e dedicação.

A equipe de Endodontia da Universidade do Sagrado Coração. Muito mais que companheiros e incentivadores, os **Profs. Sylvio de Campos Fraga, Milton Carlos Kuga, Marco Antonio Hungaro Duarte e Eliane Cristina Gullin de Oliveira**, são minha família da USC.

A Universidade do Sagrado Coração, nas pessoas das Irmãs **Jacinta Tuollo Garcia** e **Marizabel Leite**, pelo esforço e incentivo na formação de seu corpo docente.

A Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, nas pessoas do Diretor **Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached.** e do **Vice-diretor Roberto Miranda Esberard.**

Ao funcionário **Edson Luís Mori** e funcionários do Biotério do campus da UNESP-Araraquara, pela participação na parte experimental com os cães. Pela competência e carinho que dedicaram aos animais.

Ao funcionário da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, **Marco Antônio dos Santos**, pelo auxílio prestado no processamento histológico.

Ao **Sr. Júlio César de Matos** e **equipe**, pelo empenho na qualidade da documentação fotográfica e sua impressão.

Aos **Funcionários da Seção de Pós-Graduação** da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Aos **Funcionários da Biblioteca** da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Aos **Funcionários da Disciplina de Endodontia** da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Aos colegas do curso de Pós-Graduação, em especial aos da área de Endodontia: **Fábio e José Maurício**. Agradeço a convivência durante mais um desafio em nossas vidas.

Ao **CNPq**, pelo apoio financeiro à realização deste trabalho.

Aos **alunos**, de todos os níveis, a quem desejamos contribuir na formação. Nos estimulando a buscar informações e tentar dar os exemplos, até aqui recebidos.

Sumário

1.Introdução.....	13
2.Revisão de literatura.....	19
3.Proposição.....	75
4.Material e método.....	77
5.Resultado.....	99
6.Discussão.....	136
7.Conclusão.....	163
8.Referências.....	166
<i>Resumo</i>	190
<i>Abstract</i>	193
<i>Anexo</i>	196

INTRODUÇÃO

1. Introdução

O tratamento de canal radicular é constituído de várias fases interdependentes, com objetivo fundamental de permitir, ou mesmo promover, a reparação dos tecidos apicais e da região periapical. O tratamento endodôntico em dentes sem vitalidade pulpar e com reação periapical crônica apresenta maior dificuldade em função da infecção estabelecida, a qual desempenha importante papel no desenvolvimento e manutenção das lesões periapicais (BYSTRÖM et al.²⁶, 1987; SJÖGREN et al.^{143, 144}, 1991, 1997; SUNDQVIST et al.¹⁵³, 1998).

Nestas situações tem sido demonstrada maior quantidade de bactérias anaeróbias, particularmente as gram-negativas (FABRICIUS et al.³⁸, 1982; SUNDQVIST et al.¹⁵², 1989; ABOU-RASS e BOGEN¹, 1998; SUNDQVIST¹⁵¹, 1992; MOLANDER et al.⁹⁸, 1998), sua disseminação por todo o sistema de canais radiculares (SHOVELTON¹²⁹, 1964; ANDO e HOSHINO⁶, 1990; BERRUTI et al.¹⁷, 1997; PETERS et al.¹¹², 2001), grande concentração de endotoxinas bacterianas (SCHEIN e SCHILDER¹²³, 1975; PITTS et al.¹¹⁵, 1982; SCHONFELD et al.¹²⁴, 1982; HORIBA et al.⁶⁶, 1992) e presença de infecção extraradicular (LEONARDO et al.⁸⁵, 2002, NORI et al.¹⁰³, 2002)

justificando a maior dificuldade na terapia endodôntica. Como consequência das implicações microbiológicas, são observados menores índices de sucesso após tratamento endodôntico de dentes com lesão periapical (HOLLAND et al.⁶⁴, 1983; SUNDQVIST et al.¹⁵², 1989; LEONARDO e SILVA⁷⁹, 1998, SILVA et al.¹³⁴, 2002, TANOMARU FILHO et al.¹⁶⁰, 2002).

Dentre as fases que compõem o tratamento endodôntico radical, o preparo biomecânico visa a limpeza dos canais radiculares, remoção de restos orgânicos e inorgânicos, neutralização do conteúdo séptico-tóxico, assim como a modelagem do canal radicular, proporcionando a sua dilatação e atribuindo conformação cônica (LEONARDO⁷⁸, 1998). Durante o preparo biomecânico, a atuação química da solução irrigadora tem importante papel em associação à ação mecânica do instrumento endodôntico, o qual apresenta dificuldade de atuação em toda superfície do canal radicular em função da complexidade anatômica do sistema de canais radiculares (PETERS et al.¹¹², 2001; WU et al.¹⁷², 2003).

Como solução irrigadora, o hipoclorito de sódio tem sido amplamente difundido e empregado (BAUMGARTNER e CUENIN¹², 1992; CHEUNG e STOCK²⁹, 1993; WALTON e RIVERA¹⁶⁷, 1996; WEST e ROANE¹⁶⁹, 2000). Propriedades importantes são atribuídas à solução de hipoclorito de sódio, para obtenção da

limpeza do sistema de canais radiculares. Dentre elas a capacidade de dissolução de tecido orgânico (GROSSMAN e MEIMAN⁵³, 1941; GORDON, et al.⁴⁹, 1981; YANG et al.¹⁷⁴, 1995; SÓ et al.¹⁴⁵, 1997; HASSELGREN et al.⁵⁹, 1988); baixa tensão superficial (BERBERT et al.¹⁶, 1980; LEONARDO⁷⁸, 1998), neutralização parcial do conteúdo séptico-tóxico dos canais radiculares, dupla ação detergente e ação imediata (LEONARDO⁷⁸, 1998).

Um outro aspecto importante na escolha de uma solução irrigadora endodôntica para dentes sem vitalidade pulpar está relacionado à sua atividade antimicrobiana, a qual tem sido demonstrada para a solução de hipoclorito de sódio (OHARA et al.¹⁰⁴, 1993; GEORGOPOULOU et al.⁴⁶, 1994; YESILSOY et al.¹⁷⁵, 1995; AYHAN et al.⁸, 1999; SIQUEIRA JR. et al.^{137, 138}, 1999, 2000). De acordo com Leonardo et al.⁸² (1998), para o tratamento de dentes sem vitalidade pulpar e com reação periapical crônica, é recomendado o emprego da solução concentrada de hipoclorito de sódio, devido a sua maior eficácia antimicrobiana que as soluções diluídas (FOLEY et al.⁴³, 1983; OHARA et al.¹⁰⁴, 1993; AYHAN et al.⁸, 1999).

No entanto, quando em concentrações elevadas, esta solução pode prejudicar a reparação dos tecidos apicais e periapicais, atuando como irritante tecidual (SPANGBERG et

al.¹⁴⁸, 1973, LEONARDO et al.⁸³, 1984; BECKING¹³, 1991; CYMBLER e ARKADANI³², 1994; YESILSOY et al.¹⁷⁵, 1995; MEHRA et al.⁹⁷, 2000, TANOMARU et al.¹⁶² 2002).

Dessa maneira, têm sido propostas soluções irrigadoras alternativas, que tenham ação antimicrobiana e ao mesmo tempo sejam biocompatíveis (JEANSONNE e WHITE⁶⁹, 1994; LEONARDO et al.⁸⁹, 1999, TANOMARU FILHO et al.¹⁶², 2002; ONÇAG et al.¹⁰⁵, 2003). Dentre elas, merece destaque a solução de digluconato de clorexidina a 2%, com comprovada atividade antimicrobiana (JEANSONNE e WHITE⁶⁹, 1994; YESILSOY et al.¹⁷⁵, 1995; GOMES et al.⁴⁸, 2001; ONÇAG et al.¹⁰⁵, 2003), bem como efeito antibacteriano residual por períodos prolongados (HELING et al.⁶¹, 1992; JEANSONNE e WHITE⁶⁹, 1994; WHITE et al.¹⁷⁰, 1997; LEONARDO et al.⁸⁹, 1999, LENET et al.⁷⁷, 2000).

O efeito residual da solução de clorexidina após emprego como solução irrigadora endodôntica, propriedade conhecida como substantividade, pode desempenhar importante ação na desinfecção dos canais radiculares. Porém, não é conhecida a sua eficácia em relação ao sistema de canais radiculares após preparo biomecânico e influência desta atuação sobre a reparação dos tecidos periapicais.

Assim, torna-se oportuna a avaliação do efeito do preparo biomecânico utilizando diferentes soluções irrigadoras sobre as condições de desinfecção do sistema de canais radiculares e conseqüentemente sobre a reparação dos tecidos apicais e periapicais em dentes com lesão periapical.

REVISÃO DE LITERATURA

2. Revisão de Literatura

Grossman e Meiman⁵³, em 1941, estudaram o potencial dissolvente sobre polpas humanas da soda clorada, solução de enzima, solvente de mucina, ácido hidrocloreídrico, a 10%, hidróxido de potássio (em solução aquosa a 20%), solução aquosa de hidróxido de cálcio a 25%, solução de ácido sulfúrico a 50% e exsudato leitoso de *Carica papaya* (papaína). Os autores enfatizavam a eliminação do tecido necrótico para o sucesso endodôntico. As observações foram feitas em períodos de 1, 2, 3, 6, 24, 48, e 72 horas. Constataram maior eficiência da soda clorada, sendo esta a única capaz de dissolver o tecido pulpar em menos de 2 horas. As outras substâncias estudadas levaram 24 horas ou mais.

Spangberg et al.¹⁴⁸, em 1973, avaliaram a toxicidade e efeito antimicrobiano de alguns anti-sépticos empregados em endodontia. Foram testados: paraclorofenol canforado, solução de clorexidina a 0,05%, formocresol, iodeto de potássio, PMC, solução de NaOCl a 0,5 e 5,25% e álcool iodado. Foi constatado que o efeito tóxico da solução de NaOCl, clorexidina, iodeto de potássio e álcool iodado é muitas vezes maior que sua ação antimicrobiana. Foi

considerado que a solução irrigadora ideal é aquela que combina o máximo de ação antimicrobiana com uma toxicidade mínima. Nenhuma das soluções avaliadas apresentou estas características. Em casos de necrose pulpar e contaminação dos túbulos dentinários é necessário um efeito antimicrobiano maior, a solução NaOCl deve ser a escolhida. A concentração de 5,25% é mais eficiente que o necessário para este fim, portanto concentrações menores devem ser usadas para possibilitar uma correta correlação entre fatores biológicos e antimicrobianos. Neste estudo destacaram que a solução de NaOCl a 0,5% com pH 8,9 como tendo atividade antimicrobiana e baixa toxicidade. A solução de clorexidina a 0,05% apesar de baixo efeito tóxico apresentou pouca ação antimicrobiana, além de pequena capacidade de limpeza dos canais radiculares. A solução de NaOCl em baixa concentração foi considerada a melhor escolha por associar baixo nível de toxicidade com melhor efeito antimicrobiano e dissolvente de resíduos.

McComb e Smith⁹⁴, em 1975, examinaram canais tratados sob diferentes formas de irrigação, empregando MEV. Utilizando dentes humanos extraídos, que tiveram seus canais radiculares preparados empregando as seguintes soluções irrigadoras: NaOCl a 1 e 6%; NaOCl a 6%+peróxido de

hidrogênio a 3%; REDTA; RC-Prep; e ácido poliacrílico a 20%. Os autores observaram a formação de uma camada amorfa composta por dentina, restos necróticos e bactérias na superfície do canal radicular após a instrumentação. Nenhuma das técnicas propostas foi capaz de remover completamente a camada residual e os restos formados na superfície. A associação da solução de hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogênio não foi mais eficiente que o uso da água na remoção de restos. Concluíram que as técnicas estudadas foram inadequadas, no que se refere a produzir uma superfície de parede radicular limpa. Ressaltaram ainda que o uso de agentes irrigantes apresenta grande importância na limpeza dos canais radiculares, merecendo maiores estudos *in vitro* e *in vivo*.

Gordon et al.⁴⁹, em 1981, estudaram a ação dissolvente de várias diluições de solução de NaOCl (0, 1, 3 e 5%) sobre polpas vitais e necróticas de bovinos. As polpas foram observadas em períodos variando de 2 a 10 minutos. A solução de NaOCl a 0% não foi capaz de dissolver a polpa vital e teve ação limitada sobre a polpa necrótica. As concentrações de 3 e 5% apresentaram eficácia semelhante, dissolvendo cerca de $\frac{3}{4}$ da polpa vital, após 2 minutos. As concentrações de 1, 3 e 5% foram capazes de dissolver 90%

da polpa necrótica após 5 minutos. Concluíram que o uso de concentrações mais baixas da solução de NaOCl deve ser indicado, por ser menos agressivas aos tecidos que as concentrações maiores.

Ringel et al.¹²⁰, em 1982, compararam, *in vivo*, em tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar, a ação bactericida das soluções de NaOCl e clorexidina, usadas como soluções irrigadoras de canais radiculares. Os resultados mostraram que a solução de NaOCl a 2,5% foi significativamente mais eficaz, sob o ponto de vista antimicrobiano, em relação a solução de clorexidina a 0,2%.

Delany et al.³⁴, em 1982, realizaram estudo *in vitro*, avaliando a capacidade antimicrobiana da solução de clorexidina a 0,2%. Quarenta dentes com polpa necrótica recém-extraídos tiveram seus canais radiculares preparados simulando situação clínica, empregando como solução irrigadora clorexidina ou solução salina. Realizadas as culturas microbianas durante, imediatamente após e 24hs após, concluíram que a clorexidina auxilia na redução das bactérias remanescentes no sistema de canais radiculares, sendo assim eficaz, quando utilizada como solução irrigadora ou curativo de demora.

Byström e Sundqvist²⁴, em 1983 realizaram avaliação da atividade antibacteriana da solução de hipoclorito de sódio a 0,5% utilizada como irrigante endodôntico. Foram biomecanizados 30 dentes com necrose pulpar e lesão periapical, cujas coroas estavam intactas. As amostras iniciais foram positivas com 80% de incidência de anaeróbios. Realizaram um total de cinco preparos, com intervalos de 2 a 4 dias, e a cada sessão nova colheita. Ao final do experimento, dos 15 dentes tratados com solução salina, oito apresentaram cultura negativa. Enquanto no grupo tratado com solução de hipoclorito, 3 ainda apresentavam bactérias viáveis.

Azevedo e Leonardo⁹, em 1983, realizaram avaliação microbiológica da eficiência de preparo biomecânico de dentes anteriores de humanos, sem vitalidade pulpar e sem reação periapical visível radiograficamente. Os resultados mostraram que o preparo endodôntico empregando o líquido de Dakin proporcionou 85% de testes bacteriológicos negativos, após um ou dois preparos. Em apenas 10,5% dos casos foi necessário o emprego de um curativo de demora após o preparo biomecânico.

Foley et al.⁴³, em 1983, avaliaram *in vitro*, a eficácia de algumas soluções irrigadora na eliminação de *B.*

melaninogenicus e *P. anaerobius* do sistema de canais radiculares. Foram avaliados o Clorox (solução de NaOCl a 4-6%) e Gly-Oxide nas concentrações originais ou diluídos; utilizados isolados ou alternadamente. Mostraram que o Clorox concentrado e Clorox alternado com Gly-Oxide apresentaram atividade antimicrobiana. Enquanto que o Gly-Oxide isoladamente teve eficiência variável e a solução salina foi completamente ineficaz.

Byström e Sundqvist²⁵, em 1985, realizaram preparo biomecânico em 60 dentes unirradiculados, com necrose pulpar e lesão periapical, os quais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos, sendo empregadas como solução irrigadora a solução de hipoclorito de sódio a 0,5%; a 5% ou a associação das soluções de hipoclorito de sódio a 5% e EDTA a 15%. Após 2 a 4 dias da primeira sessão, foram realizadas culturas bacteriana, que se mostraram positivas em 60, 50 e 55% dos casos, respectivamente. Realizada segunda sessão, após novo período de 2 a 4 dias, o crescimento bacteriano foi observado em 40, 30 e 15% dos casos; 80% das espécies isoladas eram anaeróbios. Não houve diferença estatística entre as duas concentrações diferentes da solução de hipoclorito de sódio; porém houve entre estas e a associação hipoclorito+EDTA. Mesmo após o segundo preparo

biomecânico houve persistência de várias espécies bacterianas nos canais radiculares.

A ação dissolvente das soluções de hidróxido de cálcio, hipoclorito de sódio a 0,5%, ou sua associação, sobre tecido muscular necrótico de porco, foram avaliadas por Hasselgren et al.⁵⁹, em 1988. Constataram que as amostras de tecido colocadas em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% não foram totalmente dissolvidas após 12 dias. No entanto, quando a solução era renovada a cada 30 minutos, o tecido foi dissolvido em 3 horas. As amostras colocadas em solução de hidróxido de cálcio mostraram aumento de volume e peso nas primeiras 24 horas, com perda gradativa de volume após este período até completa dissolução após 12 dias. O pré-tratamento com hidróxido de cálcio por 30 minutos permitiu a dissolução do tecido pela solução de hipoclorito de sódio em 90 minutos. Quando pré-tratados por 24 horas ou 7 dias a dissolução ocorreu em 60 minutos.

Ostarvik e Haapasalo¹⁰⁶, em 1990, compararam a desinfecção de canais por curativos de demora e soluções irrigadoras. Como modelo experimental empregaram cilindros de dentina bovina, contaminados com *E. faecalis*, *S. sanguis*, *E. coli* ou *P. aeruginosa*. Os resultados apresentados mostraram que a solução irrigadora de maior potencial

antimicrobiano foi o iodeto de potássio iodado, entretanto a solução de NaOCl a 5,25% apresentou eficiência considerável. A clorexidina a 2% não foi mais potente que a solução de NaOCl. Outra importante conclusão obtida foi que a presença da camada residual retardou, porém não eliminou, a ação dos medicamentos testados.

Harisson et al.⁵⁸, em 1990, estudaram a ação antimicrobiana das soluções de NaOCl nas concentrações de 2,62% e 5,25%, contra *S. faecalis* e *C. albicans*. Cones de papel inoculados com os microrganismos foram expostos às soluções por 60s ou 120s, e então incubados em meio apropriado. Mostraram atividade antimicrobiana semelhante em ambas as concentrações.

Cervone et al.²⁷, em 1990, avaliaram *in vitro* o efeito antimicrobiano da clorexidina através de um sistema de liberação controlada, em adesivo vinílico. Utilizaram microrganismos de campo, isolados de bolsas periodontais, cáries e tecido pulpar necrótico. Os adesivos contendo clorexidina foram colocados sobre placas de ágar, semeados com os diversos microrganismos. Incubadas em condições de aerobiose e anaerobiose e examinadas, quanto aos halos de inibição. O dispositivo de liberação controlada inibiu o crescimento de todos os microrganismos testados.

Baumgartner e Cuenin¹², realizaram em 1992 estudo com MEV com o objetivo de avaliar a capacidade de desbridamento de diferentes concentrações da solução de NaOCl depositas por cânula ou ultra-som, em superfícies instrumentadas ou não. Os autores utilizaram pré-molares de raiz única, sendo somente uma parede, vestibular ou lingual, instrumentada. As concentrações utilizadas foram: 5,25%; 2,5%; 1% e 0,5% num volume de 3mL (ou 10 segundos de ultra-som) de solução a cada troca de instrumento. Como resultados, não foram encontradas diferenças em relação às diversas soluções e formas de irrigação, nas superfícies instrumentadas. Nas superfícies não instrumentadas, as concentrações de 1%, 2,5% e 5,25% apresentaram áreas livres de restos pulpares e pré-dentina expondo calcosferitos, independente do uso ou não do ultra-som. A solução de NaOCl a 0,5% removeu a maior parte dos remanescentes pulpares porém algumas fibrilas foram observadas.

Heling et al.⁶¹, em 1992, avaliaram o efeito da clorexidina como medicação intracanal, *in vitro* utilizando cilindros de dentina bovina inoculadas com *S. faecalis*. Os medicamentos testados foram a solução de gluconato de clorexidina a 0,2%, clorexidina num dispositivo de liberação controlada (1,2mg) e paramonoclorofenol canforado. No grupo

controle não foi utilizada qualquer medicação. Na leitura óptica dos meios de cultura com espectrofotômetro, os grupos experimentais apresentaram melhores resultados antimicrobianos que o grupo controle.

Heling et al.⁶², em 1992, avaliaram a atividade antimicrobiana da clorexidina comparando-a com o hidróxido de cálcio na desinfecção e prevenção de infecção secundária do sistema de canais radiculares. Foi utilizada dentina radicular bovina inoculada com *S. faecalis*. Nos grupos experimentais utilizaram duas formulações diferentes de clorexidina num dispositivo de liberação controlada; hidróxido de cálcio e a solução salina foi empregada como controle. Os resultados mostraram que a clorexidina reduziu significativamente a contaminação primária e secundária, nos moldes do experimento. O hidróxido de cálcio não apresentou esta capacidade nos períodos testados, de até 7 dias.

Briseño et al.²⁰, em 1992, realizaram estudo, *in vitro*, para avaliação da eficácia de duas soluções irrigadoras endodônticas, em diferentes concentrações e sob diferentes métodos de irrigação sobre *E. coli* e *S. mutans*. Os autores inocularam canais radiculares de dentes extraídos instrumentados. Após manter o inóculo por 30min no canal, estes foram irrigados, utilizando 5mL das soluções irrigadoras

de acordo com os seguintes métodos: 1-solução salina, manualmente; 2- solução de NaOCl a 1% com ultra-som; 3- solução de NaOCl a 2% com ultra-som; 4- NaOCl a 1%, manualmente; 5- NaOCl a 2%, manualmente; 6- solução Fokalhydran I (diacetato de clorexidina), manualmente; 7- solução Fokalhydran II (diacetato de clorexidina), manualmente. Feita a irrigação, foram coletadas amostras e determinadas as unidades formadoras de colônia (ufc). Foi realizada também avaliação de remoção das bactérias por MEV. Os resultados mostraram que as soluções de Fokalhydran tiveram menor efeito bactericida comparado à solução de NaOCl. Por sua vez, quando em concentração a 1%/manual, a solução de NaOCl obteve resultados similares a 1%/ultra-som e 2%/manual a solução a 2% associada ao ultra-som foi a menos eficaz. Os dados obtidos por MEV ou ufc foram similares.

Vahdaty et al.¹⁶⁵, em 1992, testaram a eficiência antimicrobiana das soluções de NaOCl e clorexidina nas concentrações de 0,2 e 2%, como controle foi utilizada solução salina. O estudo *in vitro* foi realizado em cilindros de dentina bovina inoculada com *E. faecalis*. Após irrigação, removeu-se dentina em diferentes profundidades, e estas raspas foram levadas para cultura. Os resultados mostraram

que as soluções foram igualmente eficientes, em concentrações semelhantes. Houve redução significativa nos primeiros 100µm de túbulos dentinários, porém, 50% das amostras permaneceram infectadas após a irrigação.

Ohara et al.¹⁰⁴, em 1993, avaliaram o efeito de soluções irrigadoras endodônticas sobre bactérias anaeróbias. Este estudo *in vitro*, manteve os microrganismos em contato com as soluções em teste, as quais foram incubadas para avaliação de crescimento. Os resultados mostraram que a clorexidina foi mais eficiente que o peróxido de hidrogênio, solução de NaOCl e EDTA. As soluções de hidróxido de cálcio e salina mostraram-se totalmente ineficazes.

Jeansonne e White⁶⁹, em 1994, compararam *in vitro*, a atividade antimicrobiana do gluconato de clorexidina a 2% e da solução de NaOCl a 5,25%. Utilizaram dentes com necrose pulpar recém-extraídos, instrumentados e irrigados com as soluções propostas e solução salina. Mantidos após instrumentação em ambiente anaeróbio por 24 horas. Ambas as soluções avaliadas reduziram significativamente o número das unidades formadoras de colônia em relação à solução salina. Porém não houve diferença significativa entre elas.

Cymbler e Ardakani³², em 1994, relataram caso clínico em que ocorreu injeção acidental de solução de

hipoclorito de sódio nos tecidos periapicais, apresentando como consequência uma reação severa com dor intensa, edema e parestesia.

Em 1994, Georgopoulou et al.⁴⁶, avaliaram a atividade antimicrobiana do ácido cítrico a 25% e da solução de hipoclorito de sódio a 2,5%, após períodos de 5, 15, 30, e 60 minutos. Foram utilizadas espécies bacterianas (cocos gram-positivos e bacilos gram-negativos) isoladas de canais radiculares de dentes infectados de humanos. Os testes revelaram que o ácido cítrico apresentou efeito antimicrobiano sobre anaeróbios, principalmente os cocos, porém foi menos eficaz que a solução de hipoclorito de sódio.

Em 1994, Pupo et al.¹¹⁸, avaliaram a capacidade antimicrobiana de irrigantes endodônticos. Os autores utilizaram cones de guta-percha contaminados com *S. faecalis* e *S. albus*, expostos aos irrigantes por 5 ou 10 minutos. Foram avaliadas as soluções de: NaOCl nas concentrações de 0,5, 1 e 5%; ácido cítrico a 1,1 e 50%; EDTA; água de cal; tergentol e solução salina. A solução de NaOCl se mostrou eficaz em todas as concentrações. O ácido cítrico mostrou apenas ser bacteriostático na concentração de 50% por 10 min contra *S. albus*. A água de cal mostrou efeito bacteriostático em ambos

os períodos. As demais soluções não apresentaram atividade antimicrobiana.

Yesilsoy et al.¹⁷⁵, em 1995, estudaram o efeito antimicrobiano e tóxico de soluções irrigadoras endodônticas. Utilizaram soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,5, 2,5 e 5,25% e gluconato de clorexidina a 0,12%. As soluções foram avaliadas contra 4 diferentes microrganismos e com relação a reação subcutânea em modelo animal. Os autores verificaram resultados semelhantes entre as soluções mais concentradas de NaOCl e a clorexidina. De acordo com as condições de estudo, demonstraram que a clorexidina tem potencial para uso endodôntico.

Gomes e al.⁴⁷, em 1996, avaliaram a microbiota endodôntica após procedimentos biomecânicos, realizando colheita microbiana em dentes imediatamente após preparo com irrigação com solução de hipoclorito de sódio a 2,5%; e após 7-10 dias. A incubação foi feita sob anaerobiose, e foram isoladas 51 espécies na primeira colheita. O número de cepas variou de 1 a 9. Anaeróbios obrigatórios foram cultivados em 73% dos canais e facultativos em 69%. Os anaeróbios prevalentes foram *Peptostreptococcus* (45,2%) e *Prevotella* (38,1%). Na segunda amostragem, 40 espécies foram isoladas, com número de cepas variando de 1 a 8 por canal.

Os anaeróbios isolados foram somente em 52% dos canais, enquanto que os facultativos foram recuperados em 64,3%. *Streptococcus millieri* (33,3%) e *Peptostreptococcus micros* (23,8%) foram as espécies predominantes na segunda colheita. A suscetibilidade dos microrganismos ao preparo biomecânico foi variável. Gêneros como *Enterococcus*, *Veillonella*, *Porphiromonas*, *Propionobacterium* aumentara de numero na segunda colheita. Outros gêneros como *Staphylococcus*, *Bacteróides*, *Fusobacterium* mantiveram os mesmos níveis. Concluíram que o preparo biomecânico foi ineficiente na eliminação da infecção endodôntica e a susceptibilidade aos procedimentos foi variável.

Estudando a microbiota de dentes humanos com reação periapical e câmara pulpar intacta, Sydney e Estrela¹⁵⁴, em 1996, avaliaram sua suscetibilidade ao preparo biomecânico. Os autores encontraram uma redução qualitativa de aproximadamente 50% dos anaeróbios após instrumentação com solução salina. Quando a solução de hipoclorito de sódio a 1% foi empregada, esta redução foi mais significativa. Bactérias gram-positivas foram mais resistentes ao preparo biomecânico, com maior incidência de *Peptostreptococcus prevoti* e *Clostridium histolyticum*.

Berutti et al.¹⁷, em 1997, estudaram, *in vitro*, a capacidade de penetração de irrigantes endodônticos em túbulos dentinários infectados por *S. faecalis*. Nos grupos experimentais utilizaram os seguintes regimes de irrigação: grupo A - solução de hipoclorito de sódio a 5%, seguido de EDTA a 10% e solução fisiológica; e no grupo B – solução de EDTA a 10%, agente tensoativo (Triton), hipoclorito de sódio a 5% e irrigação final com solução fisiológica. O exame histomicrobiológico (coloração de Brown e Brenn) revelou infecção residual desde as paredes do canal até uma profundidade de 300µm no grupo A. No segundo grupo foi observada área livre de infecção até uma profundidade de 130µm, e áreas de infecção variadas a partir deste limite. Algumas áreas no terço cervical e não foi encontrada presença de microrganismos nos túbulos dentinários. Sugeriram que o agente tensoativo melhora a capacidade de penetração das soluções irrigadoras utilizadas.

Em 1997, Só et al.¹⁴⁵, estudaram o tempo necessário para a dissolução tecidual por diversas marcas comerciais e diferentes concentrações de soluções de hipoclorito de sódio. Foram utilizadas línguas de hamsters, simulando o tecido pulpar. Os resultados mostraram que a capacidade de dissolução está diretamente relacionada à

concentração do cloro da solução. As diferentes marcas comerciais, com mesmas concentrações mostraram resultados diversos. Os autores atribuem estes resultados à fatores como condições de armazenagem e estabilidade da solução.

White et al.¹⁷⁰, em 1997, realizaram estudo *in vitro*, para verificar a substantividade da solução de clorexidina como solução irrigadora endodôntica. Realizaram a instrumentação de dentes extraídos, empregando soluções de clorexidina a 2 e 0,12%, sendo os canais radiculares preenchidos, em seguida, com água destilada. Foram realizadas coletas do canal radicular, com cones de papel absorvente, em diferentes períodos de tempo (6, 12, 24, 48 e 72hs) após o tratamento. A clorexidina a 2% apresentou atividade antimicrobiana em todos os períodos. A solução com 0,12% apresentou atividade em menor grau, sendo detectada nos períodos de 6 a 24hs. Concluíram que a clorexidina mantém a substantividade, ou efeito residual, quando utilizada em irrigação endodôntica.

Siqueira Jr et al.¹³⁹, avaliaram em 1997 a eficiência da solução de hipoclorito de sódio a 4% na eliminação de *E. faecalis* inoculados no canal radicular. Os autores utilizaram os seguintes métodos de irrigação: Irrigação com 2mL da solução, agitado com lima manual e

mantida por 5min; irrigação com 2mL da solução e agitação por meio de ultra-som por 1min; irrigação com a solução alternadamente com solução de peróxido de hidrogênio a 3%; e grupo controle irrigado com solução salina. Após colheita e incubação não foram encontradas diferenças significantes entre os grupos experimentais, que foram superiores ao grupo controle. Demonstraram a importância da ação antimicrobiana da solução de hipoclorito de sódio a 4%.

Sjögren et al.¹⁴⁴, em 1997, realizaram estudo *in vivo*, avaliando o prognóstico de dentes com periodontite apical tratados em sessão única. Foram tratados endodonticamente 55 dentes com condição de necrose pulpar e reação periapical. Após o preparo biomecânico, foram realizadas colheitas microbianas com técnicas anaeróbias. Poucas bactérias foram detectadas, apenas 22 dos 55 casos tratados. Reparo apical foi preservado por 5 anos, estes ocorreram completamente em 94% dos casos de cultura negativa. Nos casos de cultura positiva o índice de sucesso foi de 68%. Demonstram a importância da eliminação dos microrganismos do sistema de canais radiculares, que não pode ser alcançada somente com instrumentação, irrigação com solução de hipoclorito de sódio e obturação; não é possível erradicar a infecção do sistema de canais radiculares

sem a utilização de um curativo de demora com ação antimicrobiana.

Kuruvilla e Kamath⁷⁴, em 1998, avaliaram, *in vivo*, a atividade antimicrobiana das soluções de NaOCl a 2,5%, clorexidina a 0,2% e a associação de ambas, como irrigante endodôntico. 40 casos clínicos de tratamento de dentes anteriores com necrose pulpar e reação periapical visível radiograficamente foram selecionados. Estes foram irrigados com as soluções de NaOCl, clorexidina, hipoclorito+clorexidina e salina. Foram feitas coletas microbianas antes e após a irrigação. Mostraram que a combinação dos agentes irrigadores resultou em menor quantidade de culturas positivas após irrigação. Os autores acreditam na possibilidade da formação de cloridrato de clorexidina, aumentando seu potencial ionizante.

Lindskog et al.⁹², em 1998, propuseram um modelo animal para investigação do efeito terapêutico da clorexidina sobre a reabsorção radicular externa. Utilizando incisivos reimplantados intencionalmente de macacos, demonstraram que, com o uso de um curativo de demora à base de gel de clorexidina houve diminuição da inflamação e reabsorção nos dentes tratados.

Heling e Chandler⁶⁰, em 1998, avaliaram a eficácia das soluções de NaOCl a 1%, EDTA a 17%, clorexidina e peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações, em seqüência ou em combinação, como irrigantes endodônticos. Raízes de incisivos de bovinos infectados com *E. faecalis*, foram expostos às soluções irrigadoras. As amostras foram incubadas e analisadas por espectrofotometria. As soluções de clorexidina e NaOCl apresentaram efeito antimicrobiano semelhante. As soluções de clorexidina e peróxido de hidrogênio apresentaram efeitos sinérgicos, em combinações específicas. Ainda, vislumbraram a possibilidade da utilização destes dados na erradicação de infecções endodônticas persistentes por *E. faecalis*.

Siqueira Jr et al.¹³⁶, em 1998, avaliaram, *in vitro*, o efeito antimicrobiano de 6 soluções irrigadoras contra 4 cepas de anaeróbios gram-negativos e 4 cepas de anaeróbios facultativos, em teste de difusão em ágar. Com base nos resultados obtidos, ordenaram as soluções de acordo com sua capacidade antimicrobiana: solução de NaOCl a 4%; solução de NaOCl a 2,5%; clorexidina a 2%; clorexidina a 0,2%, EDTA e ácido cítrico; e solução de NaOCl a 0,5%.

Segura et al.¹²⁵, em 1999, compararam em cultura de células, o efeito de soluções irrigadoras

endodônticas sobre a adesão de macrófagos peritonias de ratos. Mostraram que ambas as substâncias avaliadas inibiram, *in vitro*, a capacidade de adesão dos macrófagos em superfícies de plástico. O digluconato de clorexidina a 0,12% foi menos potente que a solução de NaOCl a 2,5%. Considerando-se que a adesão dos macrófagos é o primeiro passo na reação inflamatória, no caso de extravasamento das soluções irrigadoras para o ligamento periodontal, a sua inibição por estes agentes estudados pode levar à alteração da resposta inflamatória e de reparo na região periapical.

Para avaliar a eficiência da desinfecção de túbulos dentinários, *in vitro*, de alguns irrigantes endodônticos, Buck et al.²¹ em 1999, testaram as soluções de NaOCl a 0,5%; clorexidina a 0,12%; RC-prep; Betadine iodine, e água esterilizada. Utilizaram dentina humana inoculada com *M. luteus* ou *B. megaterium*. Os resultados mostraram que os irrigantes testados alcançaram os túbulos dentinários em profundidade, numa concentração suficiente para eliminar os microrganismos, porém clinicamente, a eficiência do irrigante será dependente do tipo de microrganismo encontrado no túbulo.

Em 1999, Siqueira Jr et al.¹³⁷, estudaram a ação antimicrobiana das soluções de hipoclorito de sódio a 1 e

5,25% sobre as seguintes bactérias anaeróbias: *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *P. intermédia* e *P. nigrescens*, utilizando método de difusão em agar. Mostraram que as duas concentrações apresentaram ação satisfatória. A concentração de 5,25% proporcionou os maiores halos de inibição do crescimento bacteriano.

Sen et al.¹²⁶, em 1999, investigaram, *in vitro*, a atividade de soluções de NaOCl e clorexidina sobre dentina inoculada com *Candida albicans*. Os canais com e sem camada residual, foram inoculados e incubados por 10 dias. Depois foram tratados com as soluções de NaOCl a 1 e 5% e clorexidina a 0,12%, durante 1min, 5min, 30min e 1h, e então incubados novamente. Mostraram na presença da camada residual, a ocorrência de atividade anti-fúngica, após 1h em todos os grupos. No caso de ausência desta camada, somente a solução de NaOCl a 5% mostrou alguma atividade no período de 30 min. Concluíram que as condutas de ação anti-fúngica, nos tratamentos endodônticos, principalmente em pacientes predispostos a candidíase oral, devem ser reavaliadas.

Leonardo et al.⁸⁹, em 1999, realizaram *estudo in vivo*, da atividade antimicrobiana da solução de clorexidina como solução irrigadora endodôntica. Realizaram coletas

microbianas em dentes de humanos com necrose pulpar e lesão periapical instrumentados manualmente e irrigados com solução de clorexidina a 2%. As coletas foram realizadas imediatamente após a instrumentação e 48hs após, sendo os canais radiculares mantidos vazios e com selamento coronário. Mostraram que o tratamento obteve 100% de redução de *S. mutans* e 77,78% de eficiência contra microrganismos anaeróbios na segunda coleta. Ainda, demonstraram, *in vitro*, a atividade antimicrobiana residual da clorexidina após um período de 48hs.

Aibel e Stevens², em 1999, estudaram em cultura de células o efeito da clorexidina na produção de IL-6 por macrófagos de camundongos. Realizaram medidas pelo ELISA da interleucina produzida por células estimuladas por LPS não tratado e por LPS tratado com clorexidina. Houve diminuição da produção de IL-6 nos grupos tratados com a clorexidina, porém o tratamento não causou a inativação do LPS.

Jung et al.⁷⁰, em 1999, conduziram estudo para avaliação da eficiência da clorexidina na prevenção de reinfecção coronária dos tratamentos endodônticos. Foram utilizados canais de dentes bovinos, instrumentados, autoclavados e imersos em clorexidina, solução de NaOCl e solução salina, por 5min, antes de serem obturados. As raízes

foram montadas de tal forma que na porção coronária pudesse ser colocado o inóculo e numa câmara apical foi posta um meio de cultura. A turbidez do meio foi observada em 80% dos espécimes tratados com solução salina e 70% com solução de NaOCl após 24hs. O tratamento com clorexidina previniu a turbidez em 80% dos espécimes, demonstrando maior eficiência na prevenção da infiltração bacteriana.

Santa Cecília¹²², em 1999, estudou as propriedades físico-químicas e biológicas de uma solução irrigadora experimental (CLOR-IN, solução clorada com 1,5% de cloro). Foram realizados testes comparando a solução experimental com a solução de hipoclorito de sódio a 1% e solução salina. Os resultados do teste edemogênico mostraram que a solução de hipoclorito de sódio a 1% foi menos irritante. No teste de contato em olho de cobaia, os resultados demonstraram a seguinte ordem decrescente de irritabilidade: solução de hipoclorito de sódio a 1%, solução experimental e solução salina. Na avaliação da ação antimicrobiana a solução experimental foi mais eficaz. Quanto ao teor de cloro, a solução experimental mostrou estabilidade de cloro ativo até 120 horas do preparo da solução. Quanto a capacidade de dissolução de tecido orgânico, a solução experimental não mostrou capacidade dissolvente.

D'Arcangelo et al.³³, em 1999, realizaram estudo *in vitro*, avaliando o efeito antimicrobiano de diferentes soluções irrigadoras. Foram utilizadas cepas padrão de anaeróbios facultativos, microaerófilos e anaeróbios estritos, bactérias freqüentemente encontradas nas infecções endodônticas. As seguintes soluções irrigadoras foram avaliadas: Cetrimide a 0,2% + clorexidina a 0,2%, cetrimide a 0,2% + clorexidina a 1%, cetrimide a 0,2% + clorexidina a 0,5%, cetrimide a 0,2% + clorexidina a 0,4%, cetrimide a 0,2% + clorexidina a 0,3%, clorexidina a 0,2% + cetrimide a 1%, clorexidina a 0,2% + cetrimide a 0,5%, clorexidina a 0,2% + cetrimide a 0,4%, clorexidina a 0,2% + cetrimide a 0,3%, NaOCl a 5, 3, 1 e 0,5%. Os períodos de avaliação foram de 10, 20 e 30min. Mostraram que todos os agentes irrigantes testados apresentaram forte efeito bactericida, sem apresentar diferenças entre eles. Concluíram que pelo poder bactericida a associação clorexidina + cetrimide pode ser utilizada satisfatoriamente como solução irrigadora endodôntica.

Ayhan et al.⁸ em 1999 verificaram o efeito antimicrobiano de seis irrigantes endodônticos contra diferentes microrganismos. Foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *S. pyogenes*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*.

Discos de papel com 6mm de diâmetro, embebidos na solução irrigadora foram colocadas sobre uma placa de petri semeada com os microrganismos. Após incubação as zonas de inibição foram medidas e registradas. Os resultados mostraram que a solução de NaOCl a 5,25% obteve os maiores halos de inibição, mostrando maior atividade antimicrobiana, a mesma solução em baixa concentração (0,5%) mostrou significativa redução desta atividade. Paramonoclorofenol mostrou maior halo de inibição quando comparado ao álcool a 21%, NaOCl a 0,5% e clorexidina a 2%. A solução salina mostrou não ter atividade antimicrobiana.

Para avaliar a atividade antimicrobiana residual de diferentes regimes de irrigação endodôntica, White et al.¹⁷¹ em 1999, utilizaram dentes extraídos de humanos biomecanizados com solução de hipoclorito de sódio, clorexidina e associação de hipoclorito de sódio com clorexidina. Após instrumentação os canais foram secos com pontas de papel absorvente e preenchidos com solução salina nos períodos de 6, 12, 24, 48 e 72 horas. As pontas de papel contendo o fluido do canal foram colocadas em placas inoculadas com *S. mutans* para avaliação antimicrobiana. Mostraram atividade antimicrobiana em todos os períodos, não

existindo diferença estatisticamente significante entre os grupos testados.

Em estudo, *in vitro*, Komorowsky et al.⁷³, em 2000, avaliaram o efeito residual ou substantividade da clorexidina por um período de 21 dias. Utilizaram 60 fragmentos padronizados de dentina bovina, livres de *smear layer*, divididas em três grupos experimentais. Os espécimes foram imersos nas seguintes soluções: salina esterilizada, NaOCl a 2,5%, e clorexidina a 0,2%. Metade dos espécimes foi tratada por 5 min e outra metade por 7 dias. Os fragmentos tratados foram incubados em meio de cultura contendo *E. faecalis*. Após 21 dias a superfície dentinária foi raspada com uma broca esterilizada e as raspas levadas a um meio de cultura. Mostraram que os espécimes tratados com clorexidina por um período de 7 dias, tiveram menor colonização pelo *E. faecalis* que os outros grupos, demonstrando ser este, um potencial medicamento intra-canal, se utilizado por um período de 7 dias.

Numa revisão de literatura e relato de casos clínicos, Hulsmann e Hahn⁶⁷ descrevem a importância da solução de hipoclorito de sódio como irrigante endodôntico, assim como os riscos de possíveis acidentes com seu uso. Os autores reforçam a importância na técnica de irrigação e

indicação da concentração a ser utilizada. Em casos de risco ou após acidentes desta natureza, soluções não irritantes como solução salina ou clorexidina devem ser recomendadas.

Shuping et al.¹³⁰, em 2000, avaliaram a redução de bactérias dos canais radiculares pela instrumentação rotatória e irrigação com solução de hipoclorito de sódio a 1,25%. Selecionados canais com necrose pulpar e periodontite apical crônica. Foram realizadas culturas anaeróbias antes, durante e após o preparo biomecânico, e ainda foi avaliado após a utilização de curativo de demora à base de hidróxido de cálcio. As bactérias foram quantificadas e valores do logaritmo decimal utilizados para a análise estatística. Antes do preparo, foi confirmada a infecção endodôntica. Após a utilização da solução de hipoclorito de sódio reduziu significativamente a quantidade de bactérias nos canais radiculares, quando comparado com a irrigação com solução salina. A irrigação com a solução de NaOCl produziu 61,9% de culturas negativas, por outro lado a utilização de curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, por uma semana, produziu cultura negativa em 92,9% dos canais, demonstrando redução significativa. Demonstraram que o preparo biomecânico com instrumentação rotatória e solução de NaOCl é importante para a redução da infecção endodôntica, porém o

uso do curativo de demora com hidróxido de cálcio complementa esta ação.

Siqueira Jr et al.¹³⁸ em 2000, avaliaram, *in vitro*, a redução da população bacteriana após preparo biomecânico utilizando diferentes concentrações de solução de hipoclorito de sódio. Utilizaram raízes de dentes extraídos de humanos, inoculadas com *Enterococcus faecalis*. Durante a instrumentação endodôntica utilizaram como irrigante as soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 1, 2,5 e 5,25%, no grupo controle a irrigação foi feita com solução salina. Amostras colhidas antes e após a instrumentação, foram semeadas em ágar *Mitis salivarius* e incubadas, sendo as unidades formadoras de colônia registradas. Ainda, avaliaram o efeito de inibição das soluções no teste de difusão em agar. Mostraram efeito na redução no número de bactérias, sem diferença significativa entre as diferentes concentrações. As soluções de hipoclorito de sódio foram mais ativas que a solução salina. As três concentrações da solução de hipoclorito de sódio apresentaram grandes halos de inibição contra o *E. faecalis*. Os autores sugerem que as trocas regulares e o maior volume de solução podem manter o efeito antimicrobiano, compensando a maior concentração.

Haapasalo et al.⁵⁴ em 2000, apresentaram modelo experimental *in vitro* para testar a possível inativação de medicamentos endodônticos pela dentina. Foram estudadas as soluções saturadas de hidróxido de cálcio, hipoclorito de sódio a 1%, acetato de clorexidina a 0,5 e 0,05%, iodeto de potássio a 2/4% e 0,2/0,4%. Pó de dentina esterilizado foi adicionado aos medicamentos e o *E. faecalis* foi o microrganismo teste. Mostraram que o pó de dentina inibiu o efeito de todos os medicamentos testados. A eficácia antimicrobiana da solução de hidróxido de cálcio foi totalmente abolida com a presença do pó de dentina, similarmente o iodeto de potássio perdeu seu efeito. A clorexidina a 0,05% e o NaOCl a 1% tiveram sua ação reduzida porém não eliminada.

Para avaliar a substantividade de diferentes medicamentos endodônticos, Lenet et al.⁷⁷ em 2000, realizaram estudo *in vitro* utilizando canais radiculares de dentes de bovinos. A dentina foi exposta a solução de clorexidina num veículo de liberação controlada (contendo 25% de clorexidina) e em forma de gel; utilizaram, ainda, a pasta à base de hidróxido de cálcio e soro fisiológico. Após contato por 7 dias os canais foram inoculados com *E. faecalis* durante 21 dias. Decorrido este período amostras de dentina

em diferentes profundidades foram obtidas e incubadas. A densidade óptica das culturas foi medida. O soro fisiológico apresentou a maior densidade óptica, não mostrando atividade antimicrobiana. A clorexidina em dispositivo de liberação controlada mostrou menor densidade óptica que a pasta de hidróxido de cálcio até a 0,2mm de profundidade de dentina. As amostras com clorexidina gel mostraram os melhores resultados. Os autores sugeriram que a aplicação deste por 7 dias em dentina bovina proporciona atividade antimicrobiana residual por pelo menos 21 dias.

Em 2000, Mehra et. al.⁹⁷, relataram a formação de hematoma facial durante tratamento endodôntico após a utilização da solução de hipoclorito de sódio. Apesar de ser uma solução de ampla utilização deve-se conhecer e prevenir os acidentes, devido ao seu potencial citotóxico e de destruição tecidual, que ainda hoje ocorrem quando esta solução não é mantida nos limites do sistema de canais radiculares.

Marley et al.⁹⁵ em 2001 avaliaram, *in vitro*, o efeito da irrigação de canais radiculares com solução de clorexidina no selamento apical de obturações endodônticas. Utilizaram grupos experimentais com 10 dentes extraídos cada. Os canais foram irrigados durante o preparo

biomecânico com as soluções de clorexidina a 0,12%; hipoclorito de sódio a 5,25% ou solução salina. As obturações foram realizadas com três diferentes cimentos endodônticos, Roth's 811, AH 26 ou Sealapex, pela técnica da condensação lateral ativa. A infiltração foi medida pelo método de filtração de fluido após períodos de 90 e 180 dias. Mostraram não haver diferença significativa entre os grupos experimentais em selamento apical nos dois períodos de observação.

Em 2001, Lima et al.⁹⁰ estudaram a ação de medicamentos endodônticos sobre o biofilme de *E. faecalis*. Utilizaram clorexidina gel a 2%, clorexidina+detergente, clindamicina a 2%, clindamicina+detergente, clorexidina+óxido de zinco+detergente, clindamicina+metronidazol a 10%+detergente, e um grupo controle. Obtiveram biofilmes, com 1 dia e 3 dias, de culturas dos microrganismos sobre membranas de celulose. As membranas então foram cobertas com 1ml de cada medicamento testado e incubada por 1 dia a 37°C, após este período, cada membrana foi levada para neutralização do medicamento com solução salina e centrifugada. A suspensão foi então semeada em placas contendo ágar *Mitis salivarius*. As unidades formadoras de colônia foram contadas após 48 horas. Os resultados mostraram que apenas os medicamentos contendo clorexidina

a 2% foram capazes de inibir o crescimento do biofilme de *E. faecalis* de 1 ou 3 dias.

No ano de 2001, Ferraz et al.⁴¹, realizaram estudo para avaliar as seguintes substâncias irrigadoras: solução de clorexidina a 2%, gel de clorexidina a 2% e solução de NaOCl a 0,5; 1; 2,5; 4 e 5,25%. Os autores avaliaram a ação antimicrobiana das soluções pelo método de difusão em ágar, capacidade de remoção do *smear layer* por MEV e eliminação de *E. faecalis*, *in vitro*. Concluíram que: A clorexidina em solução ou gel apresentou os maiores halos de inibição contra os microrganismos testados. O gel de clorexidina promoveu maior remoção de *smear layer* que a solução de clorexidina e a solução de hipoclorito de sódio a 5,25%. Com o gel de clorexidina e a solução de hipoclorito de sódio a 5,25% observaram culturas negativas mais rapidamente que com os demais agentes irrigadores, quando em contato com o *E faecalis*.

Para comparar o efeito do iodeto de potássio, hidróxido de cálcio e clorexidina a 2% contra *A. israelii*, Basson e Tait¹¹, conduziram estudo *in vitro*, em 2001. Utilizaram dentes extraídos de humanos inoculados com o microrganismo, e mantidos em contato com os medicamentos por períodos de 3, 7 e 60 dias. Mostraram que a clorexidina foi

melhor em todos períodos, eliminando os microrganismos. O iodeto de potássio manteve viabilidade em 25% e o hidróxido de cálcio viabilidade em 50% dos casos.

Hales et al.⁵⁷, em 2001, apresentaram um protocolo para tratamento e manejo de acidente com solução de hipoclorito de sódio durante o tratamento endodôntico, reforçando a necessidade de conhecimento e prevenção com o uso deste irrigante.

Gomes et al.⁴⁸, em 2001, avaliaram *in vitro* a atividade antimicrobiana de diferentes concentrações da solução de hipoclorito de sódio (0,5, 1, 2,5 e 5,25%) e clorexidina (forma gel e líquido; nas concentrações de 0,2, 1 e 2%) contra *E. faecalis*. Foram utilizadas 2ml de suspensão de cultura dos microrganismos em solução salina misturadas com 1ml das soluções a serem avaliadas nos seguintes intervalos de tempo: 10, 30 e 45 segundos; 1, 3, 5, 10, 20, e 30 minutos; 1 e 2 horas. Decorridos os períodos experimentais os tubos foram incubados durante 7 dias à 37°C. Os tubos que apresentaram turbidez após a incubação foram considerados como crescimento positivo. Mostraram que a clorexidina na forma líquida nas concentrações de 0,2%, 1% e 2% e a solução de NaOCl a 5,25% foram os irrigantes mais eficientes. Entretanto o tempo que a clorexidina a 0,2% e a 2% na forma

gel necessitaram de apenas 30seg e 1min respectivamente para produzirem culturas negativas. Concluíram que todos os irrigantes testados apresentam atividade antimicrobiana, sendo esta dependente da concentração e tipo utilizado.

Nery¹⁰², em 2001, avaliou a influência dos irrigantes endodônticos no reparo de lesões apicais de dentes de cães tratados endodonticamente. Foram determinados os grupos experimentais, irrigando com as diferentes soluções: solução de NaOCl a 1 e 2,5%; soro fisiológico; e endo-PTC+ NaOCl a 1%. Todos os canais foram obturados com guta-percha e cimento Sealapex na mesma sessão. Mostrou melhores condições de reparo nos grupos que utilizaram as soluções de NaOCl a 1% e 2,5%, com resultados semelhantes entre si. No grupo que empregou o endo-PTC, foi observado maior quantidade de detritos, apresentando os piores resultados de reparo apical e periapical.

Em 2001, Estrela et al.³⁵, realizaram estudo *in vitro* para avaliar a influência de diferentes veículos dos curativos de demora endodônticos à base de hidróxido de cálcio, na sua ação antimicrobiana. Utilizaram pontas de papel absorvente que foram imersas por 3min em várias suspensões microbianas. As pontas de papel foram então colocadas em placas de Petri e cobertas com os curativos de demora com os

seguintes veículos: solução salina; PMCC; clorexidina a 1%; lauril sulfato sódio a 3%; e Otosporin. Após períodos de 1min, 48h, 72h e 7 dias, os cones de papel foram incubados. Apresentaram atividade antimicrobiana após 48h para as culturas de *S. mutans*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans* e cultura mista, independente do veículo utilizado.

Em 2001, Portenier et al.¹¹⁷ examinaram e compararam a inibição do efeito antimicrobiano de solução saturada de hidróxido de cálcio, acetato de clorexidina, e iodeto de potássio por pó de dentina, hidroxiapatita, e albumina bovina. Utilizaram metodologia semelhante a de Haapasalo et al. (2001), em que uma suspensão de cultura de *E. faecalis* foi exposta as soluções experimentais durante 1 hora sob incubação. Mostraram a inativação total da solução de hidróxido de cálcio. A clorexidina (a 0,05%) foi fortemente inibida pela albumina, porém menos pela dentina e quase nenhuma inibição pela hidroxiapatita. O iodeto de potássio apresentou uma redução de capacidade antimicrobiana semelhante ao da clorexidina. Concluíram que a inibição dos antimicrobianos testados ocorreram por diferentes mecanismos, e diferentes componentes da dentina podem causar esta inativação. A solução saturada de hidróxido de

cálcio é particularmente sensível a ação dos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina.

Leonardo et al.⁸⁷, em 2001, avaliaram *in vitro* a atividade antimicrobiana de alguns irrigantes endodônticos contra cocos gram-positivos (*M. luteus*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. epidemitis*, *S. mutans* e *S. sobrinus*); bacilos gram-negativos (*E. coli* e *P. aeruginosa*) e *C albicans*. Utilizaram a técnica de difusão em camada dupla. Sobre as placas de petri semeadas foi colocado um disco de papel absorvente (6mm) em pontos eqüidistantes embebidos em uma das soluções (detergente de mamona, clorexidina a 2% e NaOCl a 0,5%), as placas foram mantidas por duas horas para pré-difusão e incubadas por 24 horas a 37°C. Após a incubação os meios foram otimizados com cloreto de trifeniltetrazolio a 0,05%. Os halos de inibição foram então medidos. Mostraram que a solução de clorexidina inibiu todos os microrganismos; o detergente de mamona inibiu os gram-positivos e a solução de hipoclorito de sódio a 0,5% foi eficaz apenas contra o *S.aureus*.

Spratt et al.¹⁴⁹, em 2001, avaliaram, *in vitro*, a eficiência antimicrobiana de alguns irrigantes endodônticos contra biofilmes de microrganismos isolados de infecções endodônticas. Os biofilmes de *P. intermédia*, *P. micros*, *S.*

intermedius, *F. nucleatum* e *E. faecalis* foram gerados sobre discos de filtro. Utilizaram prata coloidal a 5ppm, solução de hipoclorito de sódio a 2,25%, solução de clorexidina a 0,2%, povidine iodetado a 10%(PVPI) ou PBS (controle) sobre os biofilmes em tempos de 15min ou 1h. O efeito antimicrobiano foi avaliado após centrifugação, diluição, semeadura, incubação e contagem das ufc. Mostraram que as bactérias foram susceptíveis, em diferentes graus, dependendo do irrigante avaliado e do tempo de exposição. A prata coloidal foi ineficiente, enquanto que a solução de NaOCl foram mais eficiente seguido pelo PVPI e a clorexidina. Apesar deste resultado, pela revisão de estudos realizada, consideraram que as soluções de NaOCl e clorexidina possuem atividade antimicrobiana adequada para serem utilizados como irrigante endodôntico. A contradição é atribuída, no caso das infecções polimicrobianas, pela quebra de possíveis interações benéficas entre os microrganismos, complementando a atividade antimicrobiana sobre espécies individualmente.

Em 2001, Buck et al.²² testaram a eficácia de irrigantes endodônticos na eliminação de bactérias que colonizam túbulos dentinários de dentes humanos. Utilizaram raízes de dentes extraídos de humanos esterilizados e inoculados com cultura de *E. faecalis*. Os canais então foram

expostos durante 1 min às seguintes soluções irrigadoras: hipoclorito de sódio a 0,525%; EDTA a 0,2% e clorexidina a 0,12%, a água destilada foi utilizada como grupo controle. Foram cultivadas raspas de dentina obtidas de diferentes profundidades da dentina nos terços apical médio e cervical das raízes. A solução de hipoclorito de sódio apresentou os melhores resultados, ao passo que as soluções de EDTA e clorexidina apresentaram resultados melhores que a água destilada. Observaram maior quantidade de bactérias remanescente na dentina mais distante da polpa, estes achados foram feitos em todos os terços do canal.

Knight et al.⁷², em 2001, relata caso de anafilaxia em paciente após introdução de cateter na uretra. Em teste dérmico subsequente a paciente apresentou resultado negativo ao látex e lignocaina a 2%, porém positivo à clorexidina a 1% (substâncias presentes no cateter). Relatos como este ainda são em pequeno número, mas a incidência vem crescendo. A clorexidina deve ser reconhecida como potencial causa de anafilaxia.

Lauerma⁷⁵, em 2001, relatou caso clínico de paciente que apresentou reação de hipersensibilidade imediata e tardia após uso de anti-séptico sobre a pele, a base de digluconato de clorexidina. Considera que pelo seu

uso difundido, a clorexidina apresenta casos relativamente raros de manifestações alérgicas. Relatos de desconforto do paciente frente ao uso de substâncias que contenham clorexidina devem ter seus riscos encarados seriamente.

Buck et al.²³, em 2001, avaliaram *in vitro* capacidade de diferentes irrigantes endodônticos e do hidróxido de cálcio na detoxificação de LPS bacteriano. O LPS foi misturado com uma das soluções irrigadoras experimentais durante 30 minutos. Com o hidróxido de cálcio o contato foi por 1, 2 ou 5 dias. A inativação do LPS foi determinada pela quantificação de ácidos graxos livres por técnica de espectrofotometria de massa/cromatografia gasosas com monitoramento seletivo de íons. Os resultados mostraram pequena quebra de LPS quando em contato com água, solução de clorexidina a 0,12%, solução de hipoclorito de sódio a 2,6%, etanol a 95% e solução de clorexidina+hipoclorito de sódio. O contato prolongado com o hidróxido de cálcio e com uma associação alcalina de etanol+clorexidina+hipoclorito de sódio durante 10 minutos detoxificaram a molécula de LPS por hidrólise.

Chang et al.²⁸ em 2001, avaliaram em cultura de células do ligamento periodontal de humano o efeito citotóxico das soluções irrigadoras de NaOCl e clorexidina. O estudo

sugere que ambos os irrigantes produzem dano aos tecidos vitais. A relevância clínica, contudo, deve ser avaliada de acordo com outras variáveis como concentração das soluções, tempo e área de exposição.

Para testar a eficácia de medicamentos e irrigantes endodônticos contra *Candida albicans*, Ferguson et al.⁴⁰ (2002), efetuaram estudo *in vitro*, em 2001. Avaliaram a suscetibilidade da cepa padrão ATTC64342 às soluções de hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio, digluconato de clorexidina, e solução saturada de hidróxido de cálcio determinando a concentração inibitória mínima (CIM). Mostraram que a concentração inibitória mínima da solução de hipoclorito de sódio foi $<10\mu\text{g/mL}$, do peróxido de hidrogênio foi de $234\mu\text{g/mL}$ e da clorexidina $<0,65\mu\text{g/mL}$. A solução saturada de hidróxido de cálcio não apresentou atividade inibitória. As cepas foram colocadas em contato direto com pasta de hidróxido de cálcio e para-monoclorofenol canforado, comumente utilizados como medicamentos endodônticos. Ambos foram agentes antifúngicos eficazes.

Em 2002, Sukawat e Sriswan¹⁵⁰ realizaram estudo para testar a eficácia antimicrobiana de diferentes pastas de hidróxido de cálcio utilizando dentina humana infectada com *E. faecalis* como modelo experimental *in vitro*.

Raízes de dentes extraídos de humanos após inoculação foram preenchidas com as três pastas experimentais, à base de hidróxido de cálcio P.A., acrescido de: água destilada, solução de clorexidina a 0,2% ou para-monoclorofenol canforado (PMCC). Após período de 7 dias a porção de dentina interna de cada canal foi removida com broca e incubada em meio de cultura. A quantificação das bactérias foi feita por espectrofotometria do meio de cultura pós 24 horas. Mostraram que o melhor resultado foi obtido com a pasta contendo PMCC. As pastas, aquosa e com clorexidina, se mostraram ineficientes contra este tipo de microrganismo.

Em 2002, Almyroudi et al.⁵, realizaram estudo *in vitro* para avaliar a eficiência de vários medicamentos endodônticos. Foi utilizado modelo experimental com canais radiculares de dentes extraídos de humanos biomecanizados e contaminados com *E. faecalis*. Nestes canais foram colocados solução salina, pasta aquosa de hidróxido de cálcio, gel de clorexidina a 1%, pasta com gel de clorexidina+hidróxido de cálcio e Periochip® com uma gota de solução salina. As raízes foram incubadas a 37°C e avaliadas em períodos de 72hs, 8 dias e 14 dias. Os resultados mostraram ser satisfatórios para a pasta de hidróxido de cálcio nos períodos de 3 e 8 dias, sendo no período de 14 dias ineficaz. As diferentes

formulações com clorexidina mostraram se eficazes em todos os períodos. O gel de clorexidina e a pasta com clorexidina+hidróxido de cálcio obteve um melhor resultado que o Periochip®, porém sem diferença significativa.

Siqueira et al.¹⁴¹, em 2002, avaliaram a eficácia de diferentes técnicas de instrumentação e regimes de irrigação endodôntica na redução de população bacteriana. Os autores utilizaram canais radiculares inoculados com *E. faecalis*, divididos nos seguintes grupos experimentais: técnica de rotação alternada (TRA), instrumentos manuais de NiTi e irrigação com solução de NaOCl a 2,5%; TRA e irrigação com solução de NaOCl a 2,5% combinada com ácido cítrico; TRA e irrigação combinada com solução de NaOCl a 2,5% e solução de clorexidina a 2%; e instrumentos rotatórios “Great tapers” e irrigação com solução de NaOCl a 2,5%. Como grupo controle foi utilizada instrumentação por TRA e solução salina como irrigante. O conteúdo dos canais após o preparo foram semeados em agar *Mitis salivarius* e incubados para verificação de unidades formadoras de colônia. Mostraram não haver diferença entre os grupos experimentais, apesar de todos estes terem resultados melhores que o grupo controle.

Com o objetivo de avaliar a capacidade de neutralização da endotoxina por preparo biomecânico com diferentes soluções irrigadoras e curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, Tanomaru¹⁵⁶, em 2002, realizou estudo *in vivo*. Canais de dentes de cães preenchidos com LPS, foram biomecanizados coadjuvados com solução de hipoclorito de sódio a 1, 2,5 e 5%; clorexidina a 2% e solução fisiológica. Um grupo foi mantido com LPS no seu interior e um grupo ainda foi biomecanizado com solução fisiológica e preenchido com curativo de demora (Pasta Calen). Na avaliação histológica observou que quando não se utilizou o curativo de demora, houve maior intensidade de infiltrado inflamatório, espessamento do ligamento periodontal, reabsorção cementária e óssea. Concluiu que o preparo biomecânico somente não foi capaz de inativar o LPS. O curativo à base de hidróxido de cálcio mostrou ser eficaz na inativação dos efeitos negativos da endotoxina.

Zehnder et al.¹⁷⁶, em 2002, realizaram estudo com diferentes soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 2,5 e 0,5%, tamponadas ou não. Foram avaliadas as características de dissolução de tecido e antimicrobiana contra *E faecalis*. Mostraram que não houve melhor desempenho das soluções tamponadas, e a solução de

Dakin (pH 9) obteve resultados semelhantes a solução de hipoclorito a 0,5% não tamponada (pH 12). O efeito de dissolução de tecido e antimicrobiano mostrou-se maior onde a quantidade de cloro livre foi maior, e não pela osmolaridade, pH ou capacidade tampão.

Tanomaru Filho et al.¹⁶⁰, em 2002, realizaram estudo *in vivo* para avaliar o efeito de diferentes irrigantes endodônticos e curativo de demora à base de hidróxido de cálcio no reparo apical e periapical de dentes com lesão de origem endodôntica. Utilizando modelo experimental em cães com dentes com necrose pulpar e lesão periapical crônica, estes tiveram seus canais biomecanizados irrigando-se com solução de hipoclorito de sódio a 5,25% ou clorexidina a 2%. As raízes foram obturadas imediatamente com Sealapex®+guta-percha ou foi aplicado curativo com pasta à base de hidróxido de cálcio durante 15 dias e obturação da mesma forma após este período. Após 210 dias os animais foram mortos e realizados cortes histológicos das áreas periapicais, coradas com hematoxilina/eosina e tricrômico de Mallory. Apresentaram melhores reparos histológicos nos grupos tratados com curativo de demora, com relação àqueles obturados imediatamente. Nos grupos de obturação imediata a irrigação com solução de digluconato de clorexidina

apresentou melhor reparo que a irrigação com solução de hipoclorito de sódio.

Para realizar avaliação *in vitro* de concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima, Ferreira et al.⁴² (2002), utilizaram as seguintes cepas padrão: *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Prevotella nigrescens* ATCC 33563, *Clostridium perfringens* ATCC 13124 e *Bacteroides fragilis* ATCC 25285. Foram avaliados diferentes anti-sépticos endodônticos. Mostraram que todas as substâncias estudadas apresentaram atividade antimicrobiana, sendo que o digluconato de clorexidina a 2% foi o mais eficaz, seguido pelo detergente de mamona a 10%, paramonoclorofenol canforado e solução de hidróxido de cálcio a 10%.

Estrela et al.³⁷ (2002) discutiram os mecanismos de ação das soluções de hipoclorito de sódio e sua importância no tratamento de canais radiculares. As reações de saponificação, neutralização amino ácidas, destruição de fosfolipídios e cloraminação promovem alterações biossintéticas celulares, no metabolismo e inibição enzimática irreversível nas bactérias, e conseqüente atividade antimicrobiana. Os fatores citados ainda promovem a capacidade de dissolução tecidual. Estas características

fazem da solução de hipoclorito de sódio o irrigante endodôntico mais amplamente utilizado no mundo.

Num relato clínico em 2002, Oztan¹⁰⁹ mostrou resultado favorável de tratamento endodôntico conservador em dente portador de necrose pulpar e lesão periapical extensa. O autor recomendou o uso de irrigação com gluconato de clorexidina a 0,2%, curativo de demora (pasta aquosa à base de hidróxido de cálcio) e cimento à base de hidróxido de cálcio (Apexit) para o controle da infecção endodôntica resultando em sucesso do tratamento.

Para determinar eletroquimicamente a corrosão promovida por alguns irrigantes endodônticos em instrumentos endodônticos de aço inoxidável, Oztan et al.¹¹⁰ (2002), utilizaram como método de extrapolação de Tafel. Mostraram que as soluções de gluconato de clorexidina a 0,2%, de NaOCl e de NaOCl+KOH causam severa corrosão. A primeira pelo seu baixo pH (5,72), e os outros pela ação dos íons Cl⁻ liberados. A solução de EDTA a 17% apresentou o menor índice de corrosão.

Em 2002, Tanomaru Filho et al.¹⁶², realizaram estudo *in vivo*, para avaliar a resposta inflamatória produzida por diferentes irrigantes endodônticos. Injetaram na cavidade peritoneal de camundongos isogênicos, os seguintes irrigantes

endodônticos: solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, solução de clorexidina a 2% e solução salina fosfatada (PBS) como grupo controle. Mostraram resposta inflamatória com grande migração neutrofílica e de células mononucleares na cavidade peritoneal, provocada pela solução de hipoclorito de sódio a 0,5%. Tanto a solução de clorexidina como o grupo controle não induziram a uma reação inflamatória significativa.

Estrela et al.³⁶ (2003) realizaram estudo, *in vitro*, para avaliar o efeito antimicrobiano das soluções de hipoclorito de sódio a 2% e digluconato de clorexidina a 2%. Foram utilizados os testes de difusão em ágar e exposição direta com os seguintes microrganismos: *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans* e ainda uma mistura destes. O teste de exposição direta foram feitos com tempos de 5, 10 e 30 min. Os melhores resultados da solução de hipoclorito de sódio foram observados nos testes de exposição direta, enquanto a clorexidina mostrou melhores resultados nos testes de difusão em ágar. Os autores demonstraram que a magnitude do efeito antimicrobiano sofre influência do método, indicador biológico e tempo de exposição adotados.

Em 2003, Ferguson et al.³⁹, avaliaram o selamento apical de dentes extraídos que utilizaram solução

salina, de hipoclorito de sódio a 5,25% ou digluconato de clorexidina a 0,12% como irrigantes endodôntico. Foram utilizados, ainda três diferentes cimentos obturadores (Roth's 811, AH 26 e Sealapex). A infiltração foi observada por meio do método de filtração de fluido nos períodos de 270 e 360 dias. Mostraram que a combinação Sealapex/solução salina apresentou a maior infiltração no período de 270 e 360 dias. Não foram observadas diferenças entre os grupos que utilizaram solução de hipoclorito de sódio ou clorexidina.

Grewehr et al.⁵⁰ (2003) avaliaram as soluções de ácido etilenodiamino tetracético a 17%(EDTA), hipoclorito de sódio a 1% (NaOCl), comparando com uma mistura de NaOCl a 0,5% e EDTA a 8,5% (NaOCl-EDTA). Foram verificadas as interações químicas na atividade quelante de cálcio e liberação de clorinas, dissolução de tecido e propriedades antimicrobianas. Mostraram que na quelação do cálcio a presença do NaOCl teve pequeno efeito quando comparado com a ação do EDTA puro. Por sua vez houve redução de clorina disponível na mistura quando comparada ao NaOCl puro. No teste de dissolução de tecido o NaOCl foi mais efetivo e entre O EDTA e NaOCl-EDTA não houve diferença. No teste de difusão em agar contra *E faecalis* e *C albicans* o resultando mostrou melhor desempenho dos grupos do EDTA

e NaOCl-EDTA sem apresentar diferença entre eles. Concluíram que o EDTA manteve sua capacidade de quelação de íons cálcio e atividade antimicrobiana quando combinado com NaOCl. O NaOCl por sua vez perdeu na disponibilidade de clorina e na capacidade de dissolução de tecido quando misturado ao EDTA. Clinicamente recomendaram irrigação copiosa com NaOCl para eliminar os remanescentes EDTA que possam interferir, garantido a eficiência do NaOCl.

Com o objetivo de avaliar *in vitro*, por MEV, a limpeza da superfície da parede de canais radiculares por diferentes soluções irrigadoras, Yamashita et al.¹⁷³, em 2003, utilizaram dentes recém-extraídos de humanos, divididos em quatro grupos experimentais, nos quais utilizou as seguintes soluções irrigadoras: solução fisiológica, solução de clorexidina a 2%, solução de hipoclorito de sódio a 2,5% e solução de hipoclorito de sódio a 2,5%+EDTA. A limpeza das paredes dos canais radiculares foi avaliada nos terços cervical, médio e apical em cada espécime, por atribuição de escores. Demonstraram que a melhor limpeza da superfície das paredes dos canais radiculares foi obtida pela associação da solução de hipoclorito de sódio a 2,5% e EDTA, seguida pela solução de hipoclorito de sódio a 2,5% ($p < 0,05$), sendo esta semelhante à solução de clorexidina apenas no terço

cervical. A solução de clorexidina a 2% e a solução fisiológica apresentaram resultados inferiores aos grupos anteriores e semelhantes entre si, nos três terços do canal radicular ($p>0,05$). Em todos os grupos experimentais observaram melhor limpeza no terços cervical e médio, com piores resultados para o terço apical.

Em 2003, Öncag et al.¹⁰⁵, realizaram estudo onde avaliaram a propriedades antimicrobianas e toxicidade de irrigantes endodônticos. Testaram as soluções de hipoclorito de sódio a 5,25% (NaOCl), digluconato de clorexidina a 2% (CHX) e uma associação de digluconato de clorexidina a 0,2% com cetrimide a 0,2% de nome comercial Cetrexidin (CET). Realizaram testes antimicrobianos contra *E. faecalis*, *in vitro* e estudo *in vivo* realizando culturas antes e após (48h) preparo biomecânico de dentes decíduos com polpa necrosada. A avaliação de toxicidade foi realizada injetando-se a solução irrigadora em sub-cutâneo de ratos. Mostraram que o efeito antimicrobiano *in vivo* e *in vitro* do CHX e CET semelhantes entre si e maior que do NaOCl. A toxicidade da CHX e CET é menor e o reparo nas áreas onde este foi injetado tende a ser mais rápido que com o uso do NaOCl. Concluíram que a CHX e o CET foram mais eficientes, tiveram maior ação antimicrobiana residual e menor toxicidade

que o NaOCl, sendo assim indicados como irrigante endodôntico em tratamentos de dentes decíduos.

Haumann e Love⁵⁶, em 2003, fizeram uma revisão de literatura enfocando a biocompatibilidade de algumas soluções antimicrobianas utilizadas na endodontia contemporânea. Destacam a importância e os testes utilizados experimentalmente para esta avaliação. Abordaram as soluções de hipoclorito de sódio, EDTA e clorexidina, e ainda o hidróxido de cálcio, drogas antiinflamatórias e antibióticas e fenol e seus derivados. A solução de hipoclorito de sódio (pH 11 a 12) é relatada como de uso tradicional nas diferentes concentrações, variando de 0,5 a 5,25%. Tendo como características importantes a ação antimicrobiana e capacidade de dissolver tecidos. Esta mesma capacidade torna a solução irritante aos tecidos apicais, com inúmeros relatos de injeção acidental além ápice e conseqüentes reações teciduais violentas. A clorexidina (pH 5 a 7) um bisguanídeo catiônico com ação antimicrobiana inespecífica, de amplo espectro e substantividade. Tem sido sugerida como substituta da solução de hipoclorito de sódio, nos casos de risco de extrusão. Salientam esta não é isenta de risco, e relatos de pacientes com sintomas de hipersensibilidade e reação anafilática com o uso tópico da clorexidina.

Em 2003, Siqueira et al.¹⁴⁰, avaliaram, a eficiência de alguns medicamentos utilizados como curativos intracanal contra *C. albicans*. Cilindros de dentina foram imersos nos medicamentos: hidróxido de cálcio (CaOH)+glicerina (GLI); CaOH+gluconato de clorexidina a 0,12% (CHX); CaOH+paramonoclorofenol canforado (PMCC)+GLI; e CHX+óxido de zinco (Ozn), em períodos de 1 hora, 2 dias e 7 dias. Então foram lavados com solução salina e incubados. Mostraram maior eficiência do CaOH+PMCC e CHX+Ozn, desinfectando a dentina em 1 hora. A associação de CHX+CaOH foi ineficaz, mesmo após período de 7 dias.

Em 2003, Haenni et al.⁵⁵, compararam a capacidade de alcalinização de dentina e antimicrobiana de irrigantes endodônticos isoladamente ou de pastas a base de hidróxido de cálcio utilizando estes como veículos. Foram avaliadas as soluções salina, NaOCl a 1%, clorexidina a 0,5% e iodeto de potássio a 7,5%. Todas as pastas levaram a alcalinização da dentina de forma semelhante os irrigantes isolados não promoveram alcalinização. A atividade antimicrobiana foi avaliada contra *E. faecalis* e *C. albicans*, em teste de difusão em agar. Novamente as pastas obtiveram resultados semelhantes entre si. A clorexidina isoladamente

obteve maior halo de inibição que na pasta. Concluíram que o potencial de alcalinização do hidróxido de cálcio se mantém mesmo quando é associado a substâncias ácidas ou alcalinas, quanto ao potencial antimicrobiano, este não aumenta com a adição dos irrigantes endodônticos.

Lin et al.⁹¹, 2003, avaliaram a eficiência da atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio e solução de clorexidina a 0,12%, individualmente ou combinados, contra *E. faecalis* e difusão em Agar. Mostraram que a clorexidina obteve o melhor efeito antibacteriano. A combinação de hidróxido de cálcio e clorexidina mostrou melhor desempenho que o hidróxido de cálcio somente, mas a combinação não foi melhor que a clorexidina.

Weber et al.¹⁶⁸ (2003), avaliaram, *in vitro*, o efeito antimicrobiano residual das soluções de hipoclorito de sódio a 5,25% (NaOCl) e clorexidina a 2% (CHX), sendo os grupos, ainda, subdivididos em utilização de ultra-som ou não, durante 1 minuto. Após o preparo biomecânico com os irrigantes propostos, os canais foram preenchidos com solução fostatada tamponada e colhidas amostras, para estudo microbiológico, em tempos de 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas. Realizaram estudo de difusão em agar com cepa padrão de *S. sanguis*. Mostraram que o efeito antimicrobiano

residual da CHX foi superior ao do NaOCl. O ultra-som aumentou os halos de inibição da CHX. A CHX mostrou atividade residual mesmo após 168 horas.

PROPOSIÇÃO

3. Proposição

O presente estudo teve como objetivo a avaliação das condições microbiológicas antes e 30 dias após o preparo biomecânico dos canais radiculares de dentes de cães com lesão periapical utilizando como soluções irrigadoras as soluções de hipoclorito de sódio a 2,5%, digluconato de clorexidina a 2% e soro fisiológico.

Ainda, foi analisado o efeito do preparo biomecânico com as diferentes soluções irrigadoras sobre as condições histopatológicas da região apical e periapical.

MATERIAL E MÉTODO

4. Material e Método

4.1. Procedimentos experimentais

4.1.1. Indução das lesões apicais crônicas.

Foram utilizados 4 cães, de ambos os sexos, sem raça definida, de uma mesma ninhada, com aproximadamente 1 ano de idade e pesando entre 10 e 15 Kg. Os animais foram mantidos por um período de 30 a 45 dias anteriormente às intervenções endodônticas sob cuidados relacionados à dieta, medicações e vacinas. Durante esta fase e em todo o período experimental, eles foram mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Araraquara- Campus-UNESP.

O projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araraquara- UNESP (Ofício CEEA-FOAr nº38/2002) (Anexo).

Os dentes selecionados para o estudo foram os segundos, terceiros e quartos pré-molares inferiores e segundos e terceiros pré-molares superiores, totalizando 40 dentes, com 80 raízes, divididas em 4 grupos experimentais.

Para cada intervenção, os animais foram pré-anestesiados com injeção intramuscular de 2 mL de Rompum (Cloridrato de dihidroxiazina – Bayer do Brasil S/A, Produtos Veterinários, Ind. Bras., São Paulo-SP) e, posteriormente, anestesiados com solução de Nembutal Sódico (Thionembutal – Aboot Laboratórios do Brasil Ltda., Rio de Janeiro-RJ), na dosagem de 15 mg/Kg de peso do animal, aplicada na veia tibial de uma das patas do animal. Durante os procedimentos operatórios, o animal foi mantido com solução isotônica de cloreto de sódio (Darrow Laboratório S/A – São Paulo SP) administrada endovenosamente e, quando necessário, efetuada a complementação anestésica.

Após a anestesia e realização de tomadas radiográficas periapicais, dos dentes selecionados, pela técnica da bisettriz, realizou-se a limpeza mecânica das coroas dentais com curetas periodontais e gaze esterilizada. A seguir, anestesia terminal infiltrativa foi realizada na área periapical dos dentes empregados na pesquisa utilizando anestésico à base de Cloridrato de Prilocaína com Felipressina (Citanest 3% - Astra Química e Farmacêutica).

As aberturas coronárias foram realizadas com brocas esféricas carbide número 4, em turbina de alta velocidade refrigerada a ar e água, de modo a se obter duas

aberturas, uma mesial e outra distal, mantendo-se a ponte de esmalte com o objetivo de prevenir fraturas coronárias. As aberturas oclusais foram complementadas com pontas diamantadas tronco-cônicas de extremidade inativa número 3081 (K.G. Sorensen – São Paulo-SP), também em alta rotação.

Com base nas radiografias para diagnóstico, foi efetuada a exploração dos canais radiculares com limas tipo K nº 25 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça), até o nível do “platô” apical, o qual foi utilizado como referência para a remoção da polpa radicular. Removida a polpa coronária, a irrigação da câmara pulpar foi realizada com soro fisiológico, acondicionado em tubetes anestésicos, empregando-se seringa do tipo Carpule e agulha descartável longa (27 G-Becton Dickinson, Ind. Cirúrgica Ltda., Juiz de Fora, MG). A seguir, com limas tipo K número 25 neste nível, foram realizadas tomadas radiográficas para odontometria, com o objetivo de determinar o Comprimento Real do Dente (CRD) e o Comprimento Real de Trabalho (CRT), situado aproximadamente a 1,5 mm aquém do CRD.

A partir da medida odontométrica, foi realizado o arrombamento do forame apical com auxílio de limas tipo K de nº 20, até a de nº 30, no Comprimento Real do Dente (CRD),

previamente estabelecido pelo exame radiográfico, determinando o Instrumento Apical Foraminal (IAF). Os canais radiculares permaneceram expostos ao meio bucal durante sete dias, com o objetivo de permitir contaminação.

Decorrido este período, sob nova anestesia geral, foi efetuada a irrigação/aspiração da câmara pulpar com soro fisiológico e após a secagem foi realizada colocação de uma mecha de algodão na câmara pulpar, sendo a abertura coronária selada com cimento à base de óxido de zinco e eugenol de presa rápida (Pulposan – S. S. White Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ). Após 60 dias do selamento provisório, controles radiográficos foram realizados para constatação das imagens radiolúcidas sugestivas de reação periapical crônica.

4.1.2. 1ª Colheita microbiológica.

Os grupos experimentais foram então, distribuídos de modo que cada animal recebesse as quatro variáveis. Assim, em cada hemi-arco, de cada animal, foi utilizada uma das soluções irrigadoras experimentais ou foi realizado o grupo controle (Quadro 1). Em função da perda de um elemento dentário, o total de raízes utilizadas no estudo microbiológico foi de 78.

QUADRO 1 – Distribuição dos grupos experimentais, em função da solução irrigadora empregada, relacionado à avaliação microbiológica.

Grupos experimentais	Solução irrigadora	Número de raízes
1	Clorexidina a 2%	20
2	Hipoclorito de sódio a 2,5%	20
3	Soro fisiológico	20
4	Controle - Sem preparo biomecânico	18

Realizado o isolamento dos dentes de um quadrante com dique de borracha, anti-sepsia do campo operatório com álcool a 70% e 0,3% de iodo, e neutralização com álcool/éter (em partes iguais), o selamento coronário e mecha de algodão da câmara pulpar foram removidos. A seguir, a coleta de material dos canais radiculares para avaliação da condição microbiológica foi efetuada, empregando-se dois cones de papel absorvente para cada canal radicular. Os cones de papel foram colocados imediatamente nos tubos de ensaio contendo fluido para transporte reduzido (RTF) e encaminhados para processamento microbiológico.

Composição do fluido de transporte reduzido –RTF:

Solução salina 1	75,mL
Solução salina 2	75mL
Bicarbonato de sódio a 8%	5mL
Ditiotreitol a 1%	20mL
Água destilada q.s.p.	1L

Composição da solução salina 1:

Fosfato de dipotássico	0,6g
Água destilada q.s.p.	100mL

Composição de solução salina 2:

Cloreto de sódio	12g
Fosfato monopotássico	0,6g
Sulfato de amônio	12g
Sulfato de magnésio	0,25g
Água destilada q.s.p.	100mL

4.1.3. Preparo biomecânico dos canais radiculares.

O preparo biomecânico seguiu a distribuição do Quadro 1, desta forma: No grupo 1 utilizou-se a solução de digluconato de clorexidina a 2% (CHX - Instituto de Química de Araraquara,UNESP- SP). No grupo 2 utilizou-se a solução de hipoclorito de sódio a 2,5% (NaOCl -Instituto de Química de Araraquara,UNESP- SP). No grupo 3 utilizou-se a solução

fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% (Soro - Darrow Laboratório S/A – São Paulo SP). E finalmente no grupo 4 os canais radiculares não foram manipulados, servindo como grupo controle.

Abundante irrigação/aspiração/inundação foi executada na entrada dos canais radiculares. Empregou-se uma seringa Luer de 10mL e agulha hipodérmica 30x5, inicialmente com 5mL de uma das soluções irrigadoras de acordo com o grupo experimental.

A “neutralização” do conteúdo séptico-tóxico foi realizada por meio da técnica clássica sendo utilizadas limas tipo K no sentido coroa-ápice associadas à solução irrigadora até alcançar o CRT, nos grupos 1, 2 e 3.

Para o preparo biomecânico foram empregadas limas tipo K no CRT, 1,5 mm aquém do CRD, até que a dilatação alcançasse o instrumento de nº 70 ou 60 para o segundo-pré-molar inferior. A cinemática de emprego do instrumento foi de limagem contra todas as paredes, até que o mesmo não se prendesse ao canal radicular, quando foi usado o instrumento seguinte. Após o preparo biomecânico, foi realizado o desbridamento do forame apical com o IAF, empregado em todo o comprimento do dente, para remoção de possíveis raspas de dentina na região do forame apical.

Durante todo o preparo biomecânico, foi realizada irrigação/aspiração/inundação dos canais radiculares, com a solução irrigadora estudada, sendo empregados 2 mL de solução a cada troca de instrumento. Ao término do preparo realizou-se irrigação com 2 mL solução fisiológica nos grupos 1, 2 e 3. Após secagem foi realizada inundação dos mesmos com solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 15% (EDTA Trissódico, Biodinâmica Química e Farmacêutica Ltda., SP), mantida sob agitação por 3 minutos com auxílio de uma lima tipo K nº 40. Ao final, realizou-se irrigação/aspiração com 2mL soro fisiológico e secagem dos canais radiculares por meio de pontas de papel absorvente esterilizadas (Tanariman Ind. Ltda., Manacapuru, AM).

Os canais radiculares permaneceram sem curativo de demora após o preparo biomecânico e emprego da solução de EDTA, sendo apenas acomodada uma mecha de algodão esterilizada no nível da entrada dos canais radiculares, seguida da colocação de base com cimento de policarboxilato de zinco (Durelon, ESPE, Alemanha) e restauração da cavidade oclusal com cimento ionomérico fotopolimerizável (Vitremmer, 3M ESPE, E.U.A.), de acordo com recomendação da norma ISO 7405⁶⁸, 1997.

4.1.4. 2ª Colheita microbiológica.

Decorrido o período experimental de 30 dias, foram realizadas novas tomadas radiográficas e, após o isolamento e anti-sepsia de cada um dos quadrantes, foi realizada a remoção do selamento coronário e da mecha de algodão das câmaras pulpares, seguida da coleta de material dos canais radiculares para avaliação das condições microbiológicas, de forma idêntica à coleta inicial. Os cones, após coleta foram colocados nos de tubos de ensaio contendo fluido para transporte reduzido (RTF) e encaminhados para processamento microbiológico.

4.1.5 Fixação para preparo histopatológico.

Durante o período experimental de 30 dias, os animais foram mantidos no Biotério do Câmpus da UNESP – Araraquara. Após este período, realizada a coleta microbiológica, os animais foram mortos por sobredose anestésica. As maxilas e mandíbulas foram removidas e as peças fixadas em solução de cacodilato de sódio em associação com sacarose e glutaraldeído (SOARES¹⁴⁶, 1999).

Composição da solução fixadora

Solução aquosa de glutaraldeído a 25%	50mL
Sacarose	5g
Solução tamponada de cacodilato de sódio (pH 7,4)	1L
Solução de hidróxido de sódio 0,1N	qsp

4.2. Avaliação microbiológica.

4.2.1. Metodologia do estudo microbiológico.

4.2.1.1. Diluição e Semeadura.

No laboratório de Microbiologia da Faculdade de Farmácia de Ribeirão Preto-USP, os tubos contendo as amostras microbiológicas receberam 4 a 6 perólas de vidro e uma aleta metálica esterilizada, as quais a seguir foram agitadas por 2 minutos no aparelho Mixtrom-Toptronix (São Paulo), regulado em velocidade máxima, para dessorção dos microrganismos. A seguir, diluições decimais seriadas foram realizadas, em PBS, em fluxo laminar, até a diluição de 10^{-4} . Um volume de 0,05 mL das amostras puras e de cada diluição foi depositado em placas, com auxílio de pipeta centesimal esterilizada, contendo ágar-sangue (As), ágar sangue enriquecido (Ask) (TCHAU et al.¹⁶³, 1995) e ágar Mitis salivarius (Ms). A seguir, foram distribuídos uniformemente, com auxílio de bastão de vidro em L, esterilizado.

Composição do agar sangue

Infusão de cérebro de bezerro	200g
Infusão de coração	250g
Proteose peptona	10g
Dextrose	2g
Cloreto de sódio	5g
Fosfato dissódico	2,5g

No preparo deste meio, utilizou-se o produto desidratado Brain Heart Infusion (Difco), sendo 37g adicionados a 1l de água destilada contendo 1,5% de agar. Após resfriamento foi adicionado 5% de sangue desfibrinado de coelho, 0,5mg/mL de menadiona (Merck). Distribuiu-se 5mL do meio de cultura em placas de Petri (10x60).

Composição do agar Mitis salivarius (Ms)

Triptose	10g
Proteose peptona	5g
Dextrose	1g
Sacarose	50g
Fosfato dipotássico	4g
Azul de tripan	5g
Cristal violeta	0,0008g
Agar	15g

Utilizou-se o Mitis salivarius Agar (Difco) rehidratado em água destilada. Distribuiu-se 5mL do meio de cultura em placas de Petri (10x60).

Composição do agar sangue enriquecido (Ask)

Infusão de cérebro de bezerro	200g
Infusão de coração	250g
Proteose peptona	10g
Dextrose	2g
Cloreto de sódio	5g
Fosfato disódico	2,5g

Com a mesma base do As, utilizou-se o produto desidratado Brain Heart Infusion (Difco). Rehidratado e a este se adicionou, após resfriamento, 5% de sangue desfibrinado de coelho, 5mg/mL de hemina (Difco) e 0,1mg/mL de menadiona (Merck). Distribuiu-se 5mL do meio de cultura em placas de Petri (10x60).

A incubação das placas de As foi feita em condições de aerobiose diretamente em estufa à 37°C, durante um período de 48 horas.

As placas de Ask foram incubadas em anaerobiose, empregando se o sistema Gas-pak, em jarras seladas hermeticamente, durante um período de 10 dias.

O ambiente de microaerofilia para a incubação do meio Ms foi obtido por sistema de chama de vela, em recipiente hermético, por período de 48 horas.

Decorrido os períodos de incubação, as colônias microbianas foram contadas com auxílio de microscópio estereoscópico (Nikon, Japan) e, os valores anotados em fichas para cálculo do número de unidades formadoras de colônia (ufc) de microrganismos por canal radicular.

4.2.2. Forma de Análise dos Resultados microbiológicos

Para avaliação dos resultados microbiológicos foi realizada análise das contagens de unidades formadoras de colônia (ufc), de acordo com os microrganismos desenvolvidos nos meios de cultura, nos respectivos ambientes de incubação.

Desta forma foi avaliado o efeito das diferentes soluções irrigadoras bactericidas ou apenas do preparo biomecânico quando empregado soro fisiológico, sobre a microbiota presente nos canais radiculares.

4.2.3. Metodologia estatística para análise dos resultados microbiológicos

A avaliação das ufc, obtidas neste trabalho, foi realizada pelo procedimento estatístico da análise de variância de medidas repetidas. Há três fatores em estudo: o fator Grupo, formado pelos grupos de 1 a 4, o fator Microrganismos, formado pelos três microrganismos: aeróbio, anaeróbio e microaerófilo e o fator de medidas repetidas, o Tempo. Esta análise foi complementada pelo teste de Tukey de comparações múltiplas de médias, corrigido para os números de repetições diferentes. Ambas as análises foram realizadas ao nível de 5% de significância.

A análise de variância mostrou-se viável para o logaritmo das contagens de microrganismos, às quais se adicionou uma unidade para evitar o cálculo de logaritmo de zero. Com os dados transformados para logaritmo obteve-se distribuição aproximadamente normal e homogeneidade de variâncias e covariâncias para os erros do modelo da análise de variância empregada.

4.3. Metodologia do estudo histopatológico.

4.3.1 Preparo histopatológico.

Após a fixação, as peças foram lavadas em água corrente, radiografadas, recortadas em pequenos blocos, individualizando cada raiz com os tecidos adjacentes. Para a desmineralização as peças foram imersas em solução de EDTA e submetidas à exposição em forno de microondas (Continental Aw 42 – B.S. Continental S.A. Utilidades Domésticas – São Paulo, SP) ajustado na potência 2, com tempo de exposição de 4 minutos. A temperatura da solução era verificada e mantida entre 30 e 36°C. A cada 6 exposições às micro-ondas, as peças eram lavadas em solução tampão de cacodilato de sódio e repetia-se a imersão em nova solução desmineralizadora (EDTA). As exposições foram repetidas até ser comprovada, por meio de tomadas radiográficas, a completa desmineralização. O período necessário para este processo foi de aproximadamente 15 a 20 dias.

Composição da solução desmineralizadora:

Sal EDTA dihidratado	95,05mg
Solução aquosa de glutaraldeído 25%	20mL
Sacarose	34,25g
Solução tamponada de cacodilato de sódio (pH 7,4)	280mL
Água destilada	200mL
Solução de hidróxido de sódio 0,1N	qsp
pH final da solução 7,4	

Constatada a desmineralização, as peças foram submetidas à rotina histológica, sendo lavadas em água corrente por 24 horas, desidratadas em álcool de concentrações crescentes, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Os blocos contendo a raiz disposta longitudinalmente foram reduzidos para facilitar a microtomia, quando então foram obtidos cortes seriados com espessura de 6 micrômetros. Para a análise histopatológica, os cortes foram corados usando-se hematoxilina e eosina (HE) e o tricrômico de Mallory. Durante o processamento histológico, em função da perda de alguns espécimes, retirados da avaliação histopatológica, restaram 70 raízes. A distribuição dos grupos experimentais está apresentada no Quadro 2.

QUADRO 2 – Distribuição dos grupos experimentais, em função da solução irrigadora empregada, relacionada à avaliação histopatológica.

Grupos experimentais	Solução irrigadora	Número de raízes
1	Clorexidina a 2%	18
2	Hipoclorito de sódio a 2,5%	20
3	Soro fisiológico	17
4	Controle - Sem preparo biomecânico	15

4.3.2. Critérios de avaliação histopatológica.

O material corado por Hematoxilina e Eosina (HE) e tricrômico de Mallory, foi examinado empregando-se fotomicroscópio binocular (Olympus BX50, Japan). Os escores foram atribuídos (Seguindo recomendação da norma ISO 7405⁶⁸, 1997), de acordo com os seguintes aspectos:

a) Infiltrado inflamatório periapical:

- 1- ausente
- 2 - suave
- 3 – moderado
- 4 - severo ou abscesso

b) Extensão do infiltrado inflamatório periapical (FIGURA 1):

- 1 – Ausente
- 2 - Localizado na região do forame apical
- 3 – Invadindo pequena área do espaço periodontal
- 4 – Invadindo grande área do espaço periodontal

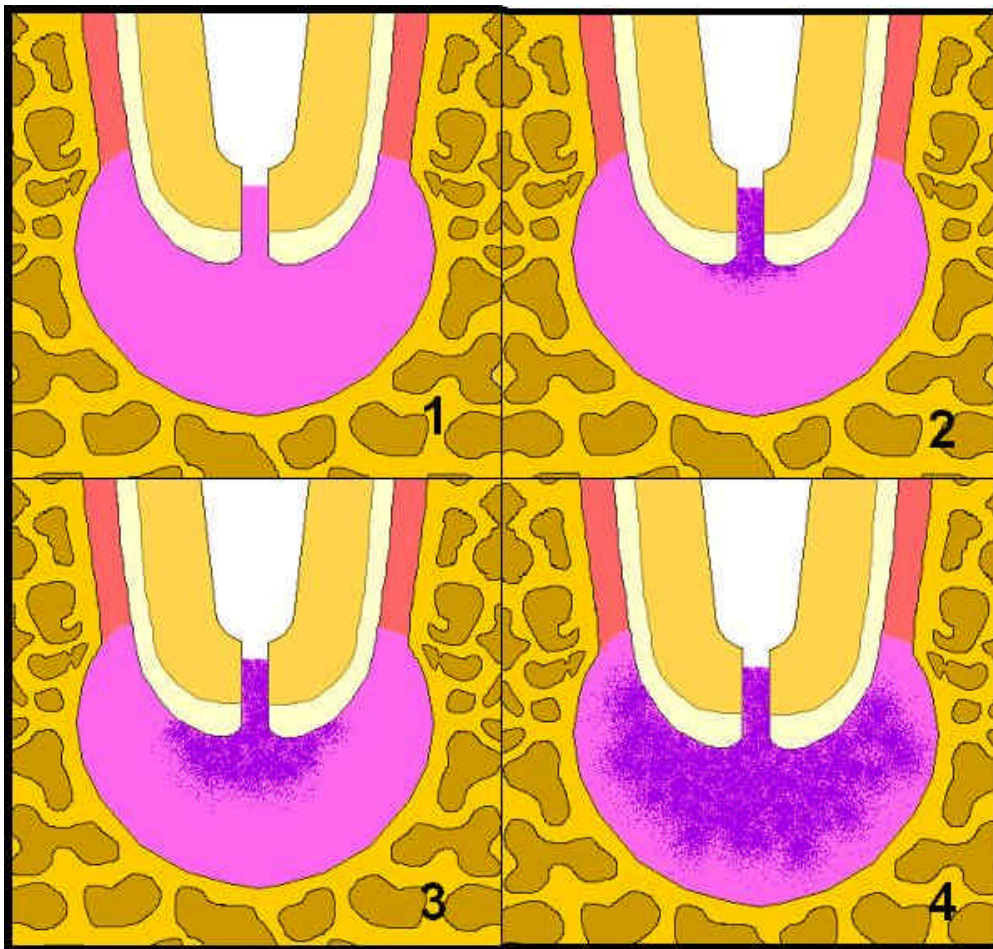


FIGURA 1 - Representação esquemática dos escores atribuídos à extensão do infiltrado inflamatório periapical.

c) Espaço periodontal apical:

- 1 - normal
- 2- levemente aumentado
- 3 - moderadamente aumentado
- 4 - severamente aumentado

d) Reabsorção apical (FIGURA 2):

- 1 – Ausente
- 2 – Parcial do cimento
- 3 – Total do cimento
- 4 – Cimento e dentina

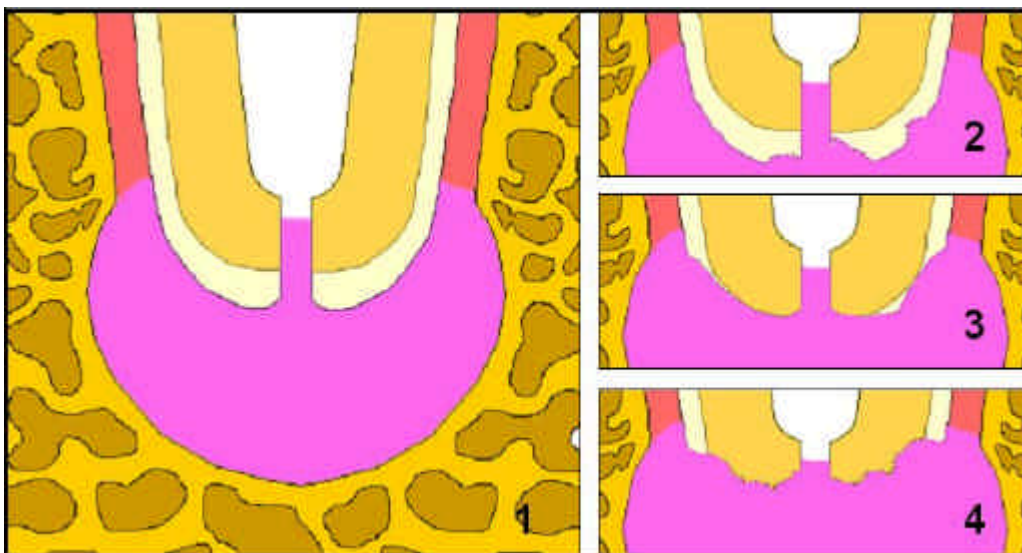


FIGURA 2 - Representação esquemática dos escores atribuídos à reabsorção apical.

e) Reabsorção óssea:

- 1 – Ausente
- 2 – Áreas inativas
- 3 – Pequenas áreas ativas
- 4 – Grandes áreas ativas

Os dados obtidos foram anotados em fichas representadas em modelo a seguir:

QUADRO 3 - Modelo de ficha utilizada para anotação dos resultados histopatológicos.

AVALIAÇÃO		RAIZ	RAIZ
Infiltrado Inflamatório	1- Ausente		
	2 - Suave		
	3 - Moderado		
	4 - Severo / Abscesso		
Extensão do infiltrado inflamatório	1-Ausente		
	2-Restrito ao forame apical		
	3-Invadindo pq parte do EP		
	4-Invadindo gd parte do EP		
Espaço Periodontal Apical	1 - Normal		
	2-Levemente aumentado		
	3-Moderadamente aumentado		
	4-Severamente aumentado		
Reabsorção Apical	1-Ausente		
	2-Parcial do Cimento		
	3-Total do cimento		
	4-Cimento/dentina		
Reabsorção óssea	1-Ausente		
	2-Áreas inativas		
	3-Pqs áreas ativas		
	4-Gds áreas ativas		

4.3.3. Metodologia estatística para análise dos Resultados histopatológicos.

As freqüências apresentadas das ocorrências histopatológicas observadas foram dispostas em ordem crescente de escores. Desta forma foi realizada a comparação global dos grupos experimentais pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Quando detectada diferença significativa em nível de 5%, foi realizada comparação individual entre os grupos pelo teste múltiplo de Dunn, visando a diferenciação entre grupos. Quando o Teste de Dunn não foi capaz de identificar a diferença, detectado pelo teste de Kruskal-Wallis, foi realizada nova avaliação dois a dois pelo teste de Mann-Whitney. Cada parâmetro da análise histopatológica foi avaliado individualmente e seus dados foram submetidos aos testes estatísticos.

RESULTADO

5. Resultados

5.1. Resultado da Avaliação Microbiológica

Nas Tabelas de 1 a 4 são apresentados os valores de contagens de microrganismos, em ufc, relativos aos quatro grupos experimentais em estudo. Em cada grupo foram utilizados três tipos de meios, para avaliação do crescimento de microrganismos anaeróbios, aeróbios e microaerófilos. A contagem das ufc, da primeira coleta, em cada meio foi realizada "antes" da execução do preparo biomecânico e a segunda coleta e contagem, "30 dias depois" do preparo biomecânico. Esses dados, acrescidos de uma unidade, foram transformados para logaritmo e estão representados graficamente nas Figuras de 3 a 6. A conversão em logaritmos decimais normalizou os dados permitindo a aplicação de testes paramétricos para análise estatística.

As médias, também representadas nessas figuras, e os respectivos desvios padrão são dados na Tabela 5. Os gráficos representados nas figuras 3 a 6 permitem uma avaliação inicial da redução dos microrganismos nos diversos grupos, evidenciando que os Grupos 1 e 2 tiveram redução evidentemente maior que os Grupos 3 e 4. Enquanto nos dois primeiros a redução parece ter sido efetiva, nos outros dois

houve de um modo geral, aumento da quantidade de microrganismos. No grupo 1 ocorreu, em média, diminuição significativa dos três tipos de microrganismos. No grupo 2 somente foi observada diminuição significativa dos microrganismos anaeróbios, não havendo evidência de que para os outros dois a média antes seja diferente da média depois da realização do preparo biomecânico. Nos grupos 3 e 4, houve evidência de que o número dos microrganismos aeróbios e microaerófilos aumentou, enquanto que não há evidência de alteração em relação aos anaeróbios.

A transformação logarítmica, e conseqüente normalização dos dados viabilizaram a aplicação do procedimento estatístico da análise de variância neste estudo. O resultado desta análise está na Tabela 6, onde os valores de probabilidade p menores do que 0,05 indica que a fonte de variação correspondente tem efeito significativo em um nível de significância menor do que 5%. Primeiro observa-se que a única interação significativa é entre Grupo e Tempo, de modo que há uma dependência entre esses dois fatores, os quais, por sua vez, independem do fator microrganismo.

Foi aplicado o teste de Tukey para estudar a dependência entre os fatores Grupo e Tempo e os valores de probabilidade correspondentes às diferenças de médias,

tomadas duas a duas, são dados na Tabela 7. Observa-se que, "antes" da execução dos experimentos, os grupos eram homogêneos quanto ao número de microrganismos ($p > 0,05$), e, "depois", ocorreram diferenças significativas entre médias.

Os valores p da Tabela 7 mostram que, seja qual for o microrganismo e considerando a situação de "antes" para "depois", no Grupo 1 a média de contagem diminuiu significativamente e foi a menor de todas. A média do Grupo 2 também diminuiu significativamente para um valor menor do que as médias dos Grupos 3 e 4, mas maior do que a do Grupo 1. Para o Grupo 3 não há evidência de que a média tenha alterado significativamente, mas para o Grupo 4 houve um aumento significativo. Entretanto, não é possível afirmar que, no final, haja diferença significativa entre as médias de contagens dos Grupos 3 e 4.

Em relação aos microrganismos, puderam ser comparadas as médias independentemente de Grupo e Tempo. Assim, o que ocorreu com um tipo de microrganismo quanto a média de contagens em um tempo ocorreu no outro. Da mesma forma o que ocorreu em um grupo ocorreu em todos. O resultado do teste de Tukey para a comparação de médias relativas aos microrganismos está na Tabela 8. Os valores de probabilidade indicam que os microrganismos anaeróbios têm

a maior média, com diferença significativa ($p < 0,05$) e outros dois, aeróbios e microaerófilos, têm médias menores, mas que não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

Tabela 1 - Contagens de microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 1, antes e depois da realização do tratamento.

	Antes			Depois		
	Anae	Aero	Microae	Anae	Aero	Microae
1	84000	48000	36000	510	460	300
2	62000	270	34000	10300	26000	32000
3	29000	1670	520	1400	2050	390
4	480	2200	1800	260	980	860
5	50000	870	20	260	120	0
6	47000	8400	9400	60	120	0
7	54500	11900	11700	100	0	0
8	92000	44000	36000	160	340	140
9	9900	590	660	100	60	0
10	198000	1880	1710	160	0	0
11	11100	20	260	7400	0	0
12	160	220	440	0	0	60
13	410	60	80	0	80	0
14	13100	810	620	160	80	0
15	230	100	80	80	60	0
16	5000	2300	1200	0	100	0
17	700	330	520	330	420	80
18	133000	111000	114000	230	500	40
19	770	400	60	40	0	0
20	140	180	100	0	100	0
Média	39574,5	11760,0	12458,5	1077,5	1573,5	1693,5
DP	53249,1	27169,9	27022,6	2717,0	5769,6	7136,5

DP= Desvio padrão

Tabela 2 - Contagens de microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 2, antes e depois da realização do tratamento.

	Antes			Depois		
	Anae	Aero	Microae	Anae	Aero	Microae
1	203000	170	180	129000	192000	134000
2	1320	330	290	170	0	0
3	8900	4400	5200	160	0	0
4	48000	11200	5400	4200	0	0
5	53000	1320	300	48000	4100	3200
6	32000	20	7000	6300	0	5100
7	56000	11900	2120	1370	10700	2080
8	51000	65000	5200	26000	28000	1870
9	17300	1590	610	5900	2000	3200
10	60000	610	20	50000	390	60
11	57000	11600	3600	1020	370	290
12	23100	580	270	1080	1820	450
13	2400	3200	60	540	590	260
14	3800	3400	80	3200	470	0
15	101000	66000	64000	420	13300	40
16	32000	7900	7600	22000	4200	3400
17	480	5000	1800	510	820	260
18	4500	40	140	540	380	120
19	3400	2800	350	2400	1370	180
20	46000	24200	3600	41000	9600	1120
Média	40210,0	11063,0	5391,0	17190,5	13505,5	7781,5
DP	46961,5	19550,2	14028,5	31194,7	42568,1	29746,8

DP= Desvio padrão

Tabela 3 - Contagens de microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 3, antes e depois da realização do tratamento.

	Antes			Depois		
	Anae	Aero	Microae	Anae	Aero	Microae
1	58000	170	80	1220	34000	520
2	51000	11800	1750	28000	550	24000
3	3800	830	430	84000	58000	43000
4	6400	980	270	58000	40000	24000
5	188000	7900	140	166000	155000	116000
6	18100	14500	1700	11400	13300	6800
7	4500	930	400	790	420	400
8	28000	8600	10700	1990	1510	2110
9	510000	105000	113000	590000	77000	49000
10	980000	84000	92000	770000	56000	64000
11	1190	510	60	12400	12600	8700
12	350	100	80	20	40	1800
13	590	430	430	214000	12900	12800
14	20500	11300	10600	950000	384000	780000
15	650	410	2600	390	260	360
16	920	740	440	240	140	220
17	520	60	180	420	660	80
18	370	400	5400	17700	11300	7200
19	36000	180	80	2600	5600	920
20	2800	880	140	240	510	160
Média	95584,5	12486,0	12024,0	145470,5	43189,5	57103,5
DP	238636,0	28636,8	31297,5	281484,1	88859,4	172670,1

DP= Desvio padrão

Tabela 4 - Contagens de microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 4, antes e depois da realização do tratamento.

	Antes			Depois		
	Anae	Aero	Microae	Anae	Aero	Microae
1	5600	720	440	2000	790	490
2	6200	980	800	740	1500	300
3	5600	1600	180	13500	1170	160
4	122000	8200	15400	3700	5100	1580
5	45000	2900	3100	17950	27600	14900
6	54000	580	5800	10500	13500	9100
7	2310	40	80	87000	113000	57000
8	3590	100	80	50000	15100	15000
9	95000	92000	13600	81000	96000	76000
10	88000	41000	40000	7500	8700	9700
11	33700	7200	780	159000	230000	260000
12	5100	2380	690	420000	292000	550000
13	7700	3700	4600	730000	408000	1350000
14	790	560	400	240000	167000	177000
15	120	130	20	1050	960	400
16	580	160	80	410	550	100
17	480	4200	260	590	1040	150
18	280	1200	800	450	400	1140
Média	26447,2	9313,9	4839,4	101410,6	76800,6	140167,8
DP	38612,3	22692,6	9904,9	191647,4	121173,8	332542,4

DP= Desvio padrão

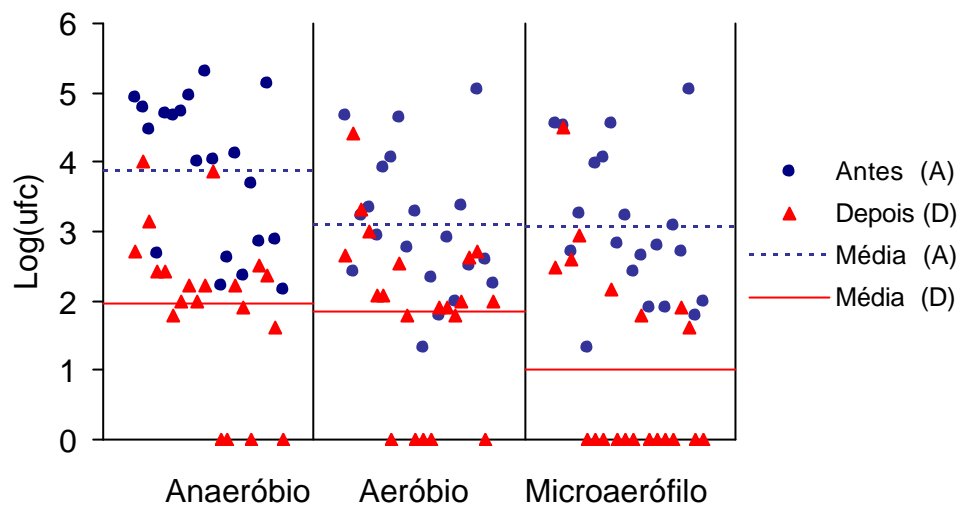


FIGURA 3 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens de microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 1.

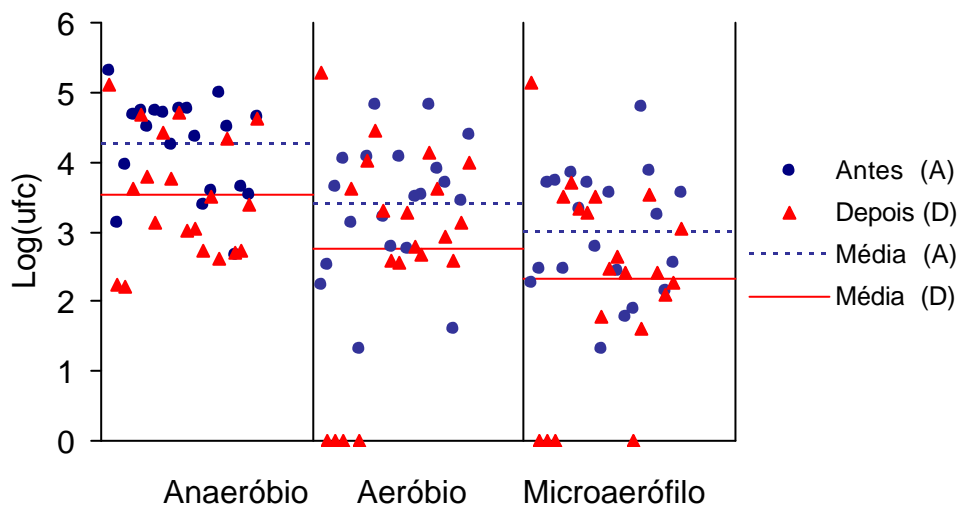


FIGURA 4 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens de microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 2.

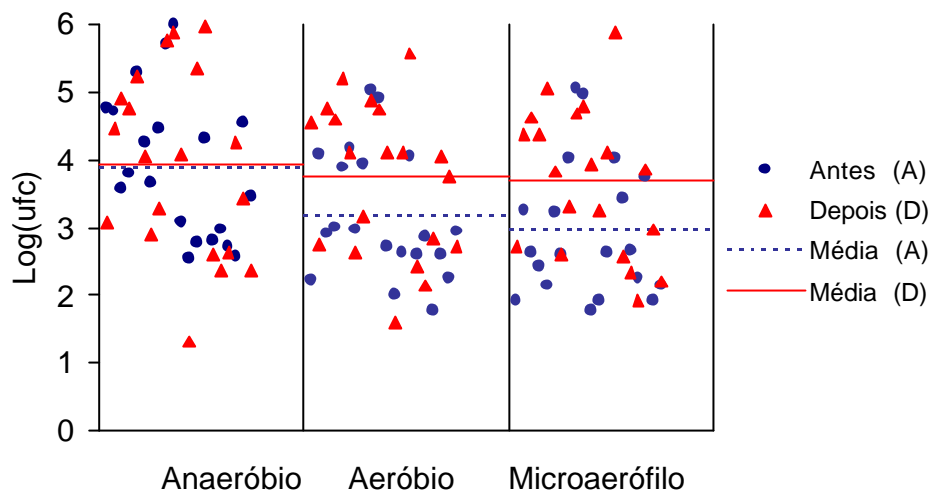


FIGURA 5 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens de microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 3.

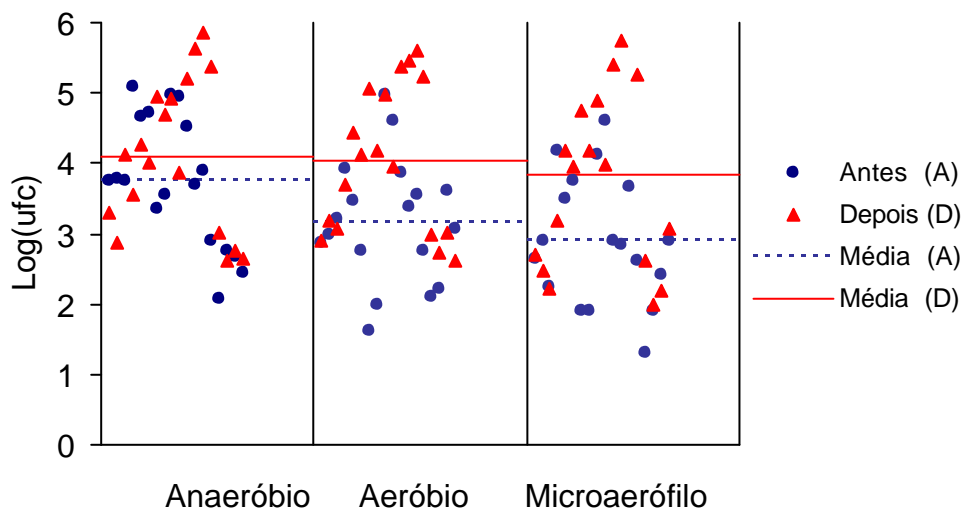


FIGURA 6 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens de microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 4.

Tabela 5- Média e desvio padrão (DP) de contagens de microrganismos transformados para logaritmo e teste t de Student para comparar as médias de contagens antes e depois da aplicação do tratamento.

Grupo	Microrganismo	Tempo	Média	DP	t	P
Grupo 1	Anaeróbio	Antes	3,864	1,084	8,076	<0,001
		Depois	1,969	1,179		
	Aeróbio	Antes	3,073	1,001	3,946	0,001
		Depois	1,840	1,251		
	Microaerófilo	Antes	3,067	1,074	7,626	<0,001
		Depois	0,998	1,374		
Grupo 2	Anaeróbio	Antes	4,244	0,700	4,555	<0,001
		Depois	3,518	0,884		
	Aeróbio	Antes	3,375	0,953	1,815	0,085
		Depois	2,745	1,572		
	Microaerófilo	Antes	2,976	0,888	1,724	0,101
		Depois	2,335	1,433		
Grupo 3	Anaeróbio	Antes	3,898	1,060	0,148	0,884
		Depois	3,936	1,351		
	Aeróbio	Antes	3,180	0,934	2,309	0,032
		Depois	3,735	1,125		
	Microaerófilo	Antes	2,935	0,996	3,028	0,007
		Depois	3,673	1,089		
Grupo 4	Anaeróbio	Antes	3,756	0,928	1,326	0,201
		Depois	4,094	1,078		
	Aeróbio	Antes	3,165	0,878	3,203	0,005
		Depois	4,032	1,051		
	Microaerófilo	Antes	2,908	0,907	3,079	0,006
		Depois	3,827	1,329		

Tabela 6- Sumário da análise de variância

Fonte de variação	Graus de liberdade	Média Quadrática	F	p
Grupo (1)	3	33,230	19,64	<0,01
Microorganismo (2)	2	26,747	15,81	<0,01
(1)x(2)	6	1,015	0,60	0,73
Resíduo (a)	222	1,692		
Tempo (3)	1	11,325	14,76	<0,01
(1)x(3)	3	36,468	47,52	<0,01
(2)x(3)	2	2,045	2,66	0,07
(1)x(2)x(3)	6	0,732	0,95	0,46
Resíduo (b)	222	0,767		

Tabela 7- Valores de probabilidade obtidos pelo Teste de Tukey para comparações múltiplas de médias das combinações de Grupo e Tempo.

Grupo	Tempo	Média	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}
Grupo 1	Antes	3,335	{1}						
Grupo 2	Antes	3,532	{2}	0,99					
Grupo 3	Antes	3,338	{3}	1,00	0,99				
Grupo 4	Antes	3,276	{4}	1,00	0,97	1,00			
Grupo 1	Depois	1,603	{5}	<0,01	0,00	0,00	0,00		
Grupo 2	Depois	2,866	{6}	0,29	<0,01	0,28	0,54	<0,01	
Grupo 3	Depois	3,781	{7}	0,35	0,92	0,10	0,26	<0,01	<0,01
Grupo 4	Depois	3,985	{8}	0,04	0,40	0,04	<0,01	<0,01	<0,01

Tabela 8- Valores de probabilidade obtidos pelo Teste de Tukey para comparação múltiplas de médias de microorganismos.

Microrganismo	Média	{1}	{2}	{3}
Anaeróbio	3,653	{1}		
Aeróbio	3,131	{2}	<0,01	
Microaerófilo	2,827	{3}	<0,00	0,10

5.2. Resultado da Avaliação Histopatológica

No Quadro 4 encontram-se dispostas as freqüências dos espécimes para cada fenômeno histopatológico avaliado, distribuídas em função de suas ocorrências nos quatro grupos experimentais.

QUADRO 4- Freqüência dos fenômenos histopatológicos nos espécimes. Distribuição em função dos grupos experimentais

PARÂMETRO	GRUPO	1 CHX	2 NaOCl	3 Soro	4 Cont
Infiltrado Inflamatório	1- Ausente				
	2 - Suave				
	3 - Moderado	6	3		
	4 - Severo / Abscesso	12	17	17	15
Extensão do infiltrado inflamatório	1-Ausente				
	2-Restrito ao forame apical				
	3-Invadindo pq parte do EP	5	3		
	4-Invadindo gd parte do EP	13	17	17	15
Espaço Periodontal Apical	1 – Normal				
	2-Levemente aumentado				
	3-Moderadamente aumentado		3		1
	4-Severamente aumentado	18	17	17	14
Reabsorção Apical	1-Ausente				
	2-Parcial do Cimento	4	14	14	9
	3-Total do cimento	12	6	3	6
	4-Cimento/dentina	2			
Reabsorção óssea	1-Ausente				
	2-Áreas inativas				
	3-Pqs áreas ativas	9	10	12	4
	4-Gds áreas ativas	9	10	5	11

5. 2.1 Descrição histopatológica dos grupos experimentais.

5.2.1.1 Grupo 1 - Solução de clorexidina a 2%.

Foram observadas 18 raízes neste grupo. De um modo geral, ocorreram alterações inflamatórias severas e reabsorção dos tecidos mineralizados na região apical e periapical.

O infiltrado inflamatório composto por células predominantemente crônicas foi severo em 12 casos, sendo moderado em 6 casos. Não houve presença de infiltrado inflamatório suave ou ausente. Em alguns casos foi observada pequena quantidade de fibras colágenas em estágio inicial de organização nos limites da lesão periapical.

O infiltrado inflamatório da região periapical apresentava-se em grande extensão, invadindo grande parte do espaço da lesão periapical em 13 casos, sendo que em 5 casos a extensão do espaço periapical ocorria de forma parcial. Os escores 1 e 2, representando ausência de infiltrado ou restrição deste ao forame apical não foram observados.

O ligamento periodontal periapical mostrou-se severamente aumentado nos 18 casos.

Reabsorções cementárias foram observadas em grau severo, envolvendo cimento e dentina em 2 casos. A

reabsorção moderada, envolvendo a extensão total do cimento, em 12 casos e suave, envolvendo o cimento parcialmente, em 4 casos. Não foi observada ausência de reabsorção apical.

No osso alveolar nos limites da lesão foi observada reabsorção óssea intensa, classificada entre moderada e severa, quando envolviam pequenas ou grandes áreas. Os escores atribuídos ficaram divididos entre 3 e 4, com 9 casos para cada um.

GRUPO I

Solução de Digluconato de Clorexidina a 2,0%

FIGURA 7A - Visão panorâmica evidenciando ligamento periodontal apical severamente espessado (L). HE - Olympus - 40 X.

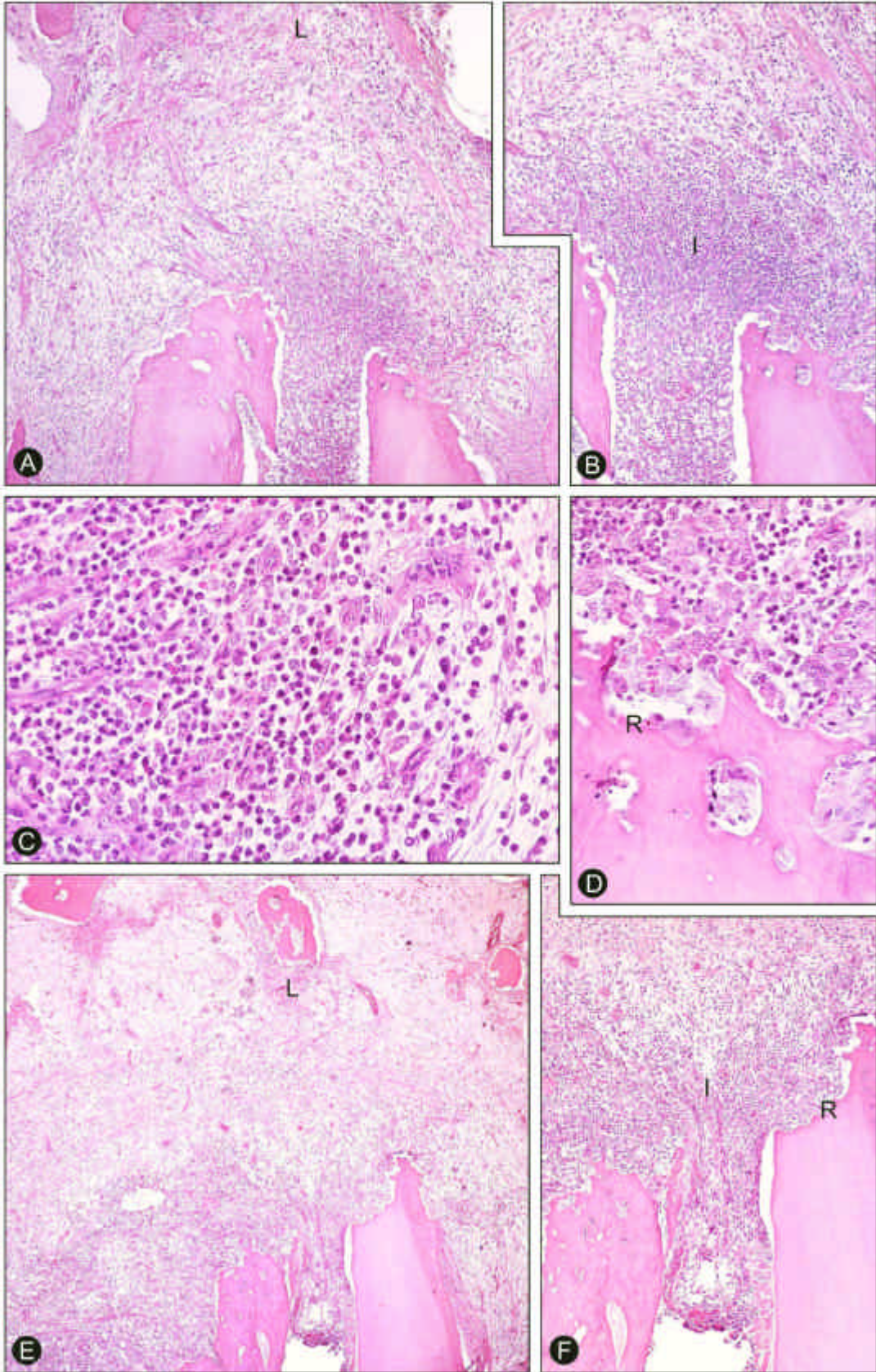
FIGURA 7B – Detalhe da figura anterior destacando tecido intersticial e região periapical com severo infiltrado de células inflamatórias, denso e misto (I). HE – Olympus - 100 X.

FIGURA 7C – Maior aumento da figura anterior destacando o severo infiltrado de células inflamatórias. HE - Olympus – 400 X.

FIGURA 7D - Detalhe da figura 1B, destacando áreas de reabsorção cementária apical (R). HE – Olympus - 400 X.

FIGURA 7E - Visão panorâmica evidenciando grande área de reabsorção óssea periapical e ligamento periodontal apical severamente espessado (L). HE - Olympus - 40 X.

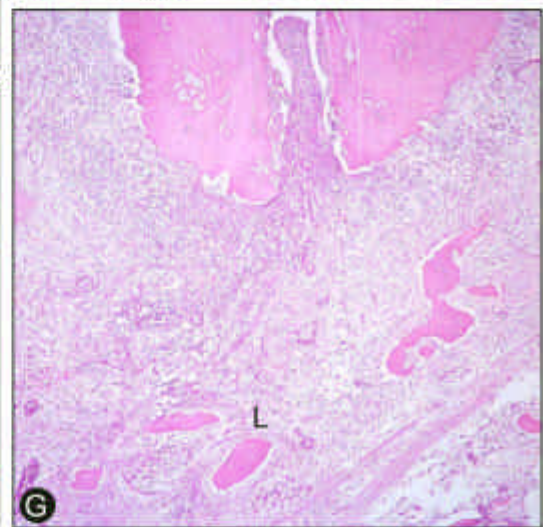
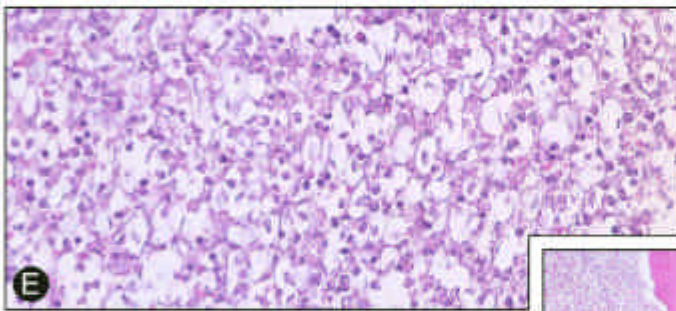
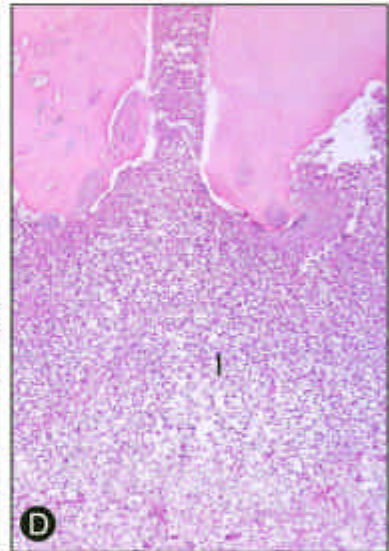
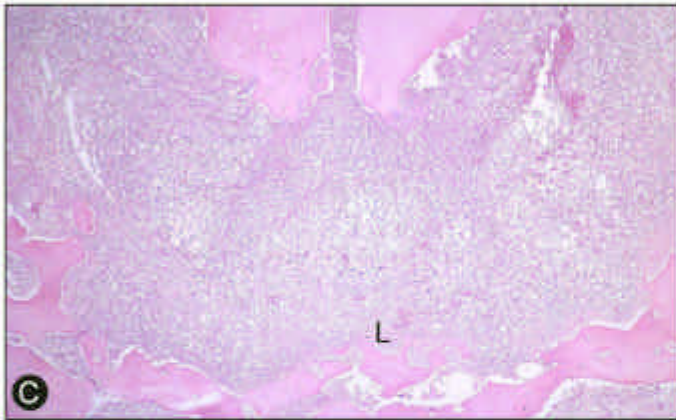
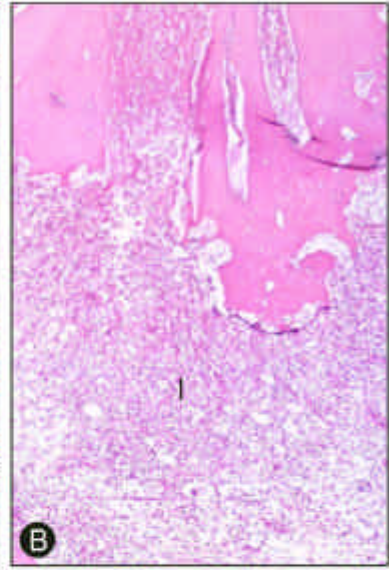
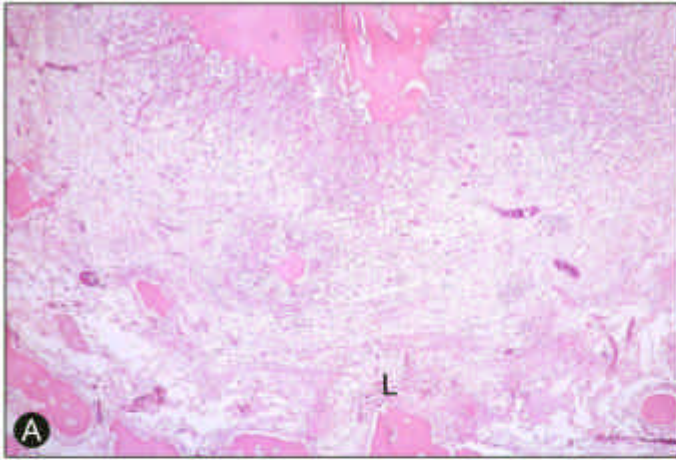
FIGURA 7F - Detalhe da figura anterior destacando tecido intersticial e região periapical com severo infiltrado de células inflamatórias (I) e área de reabsorção cementária apical (R). HE – Olympus - 100 X.



GRUPO I

Solução de Digluconato de Clorexidina a 2,0%

- FIGURA 8A** – Região periapical com extensa reação periapical crônica evidenciando ligamento periodontal apical severamente espessado (L). HE - Olympus - 40 X.
- FIGURA 8B** - Detalhe da figura anterior destacando região periapical adjacente ao ápice com severo infiltrado de células inflamatórias (I). HE – Olympus - 100 X.
- FIGURA 8C** - Região periapical com extensa destruição óssea apresentando ligamento periodontal apical severamente espessado (L). HE - Olympus - 40 X.
- FIGURA 8D** - Detalhe da figura anterior destacando região periapical adjacente ao ápice radicular com severo infiltrado de células inflamatórias (I). HE – Olympus - 100 X.
- FIGURA 8E** – Maior aumento da figura anterior destacando o severo infiltrado de células inflamatórias. HE - Olympus – 400 X.
- FIGURA 8F** - Região periapical relacionada à Figura 2C com extensa destruição óssea evidenciando ausência de deposição de feixes de fibras colágenas. Tricrômico de Mallory - Olympus - 40 X.
- FIGURA 8G** - Região periapical apresentando ligamento periodontal apical severamente espessado (L). HE - Olympus - 40 X.



5.2.1.2 Grupo 2 - Solução de hipoclorito de sódio a 2,5%.

Vinte raízes foram avaliadas neste grupo experimental. Alterações inflamatórias severas na região periapical e reabsorção dos tecidos mineralizados, osso e cimento apical foram freqüentemente observados.

O infiltrado de células inflamatórias era composto por células predominantemente crônicas, sendo severo em 17 casos e moderado em 3 espécimes. Não foi observado escore 1 ou 2.

Grande extensão do infiltrado de células inflamatórias no espaço periodontal periapical foi observada em 17 casos. Outras 3 raízes apresentaram infiltrado inflamatória com extensão parcial da região periapical.

O ligamento periodontal periapical mostrou-se severamente espessado em 17 casos e moderadamente aumentado em 3 casos.

Reabsorções dentinárias não foram observadas neste grupo. Reabsorção em toda a extensão do cimento foi observada em 6 casos e em outras 14 raízes a reabsorção de cimento observada foi parcial.

No osso alveolar localizado nos limites da reação periapical crônica foi observada atividade osteoclástica, sendo a reabsorção ativa observada em pequenas ou grandes áreas ósseas em 10 casos para cada classificação.

GRUPO II

Solução de Hipoclorito de Sódio a 2,5%

FIGURA 9A - Visão panorâmica do ápice radicular e região periapical evidenciando região periapical severadamente aumentada (L). HE – Olympus - 40 X.

FIGURA 9B - Maior aumento da Figura 3A evidenciando severo infiltrado de células inflamatórias adjacente ao forame apical (I). HE – Olympus - 100 X.

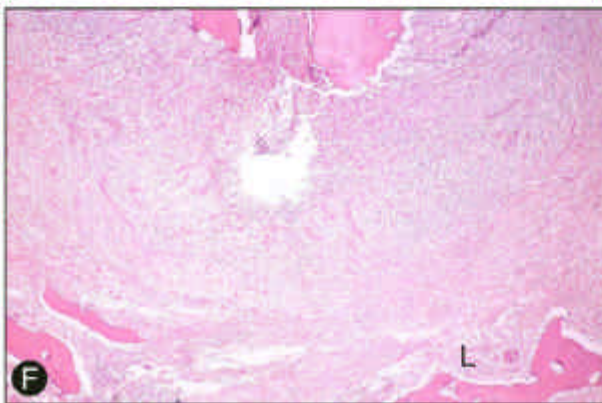
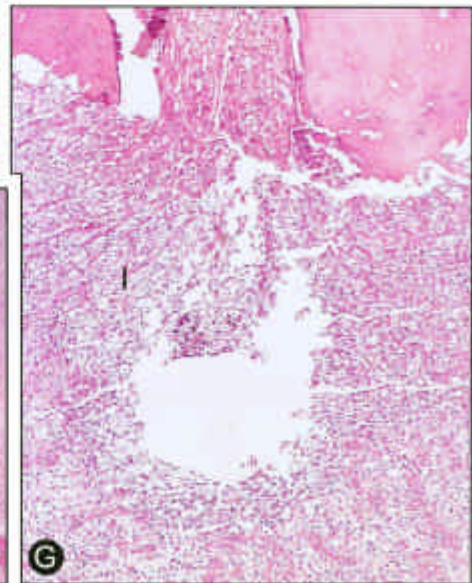
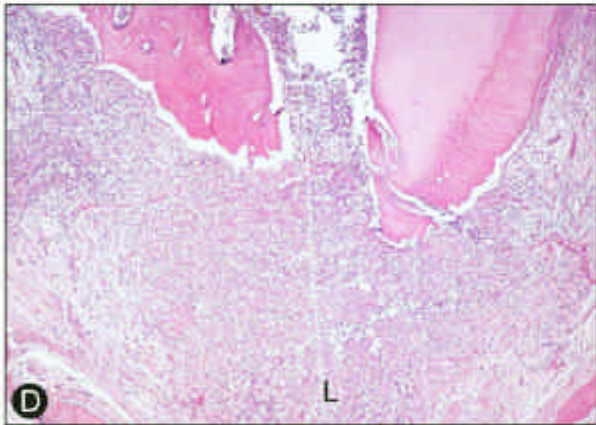
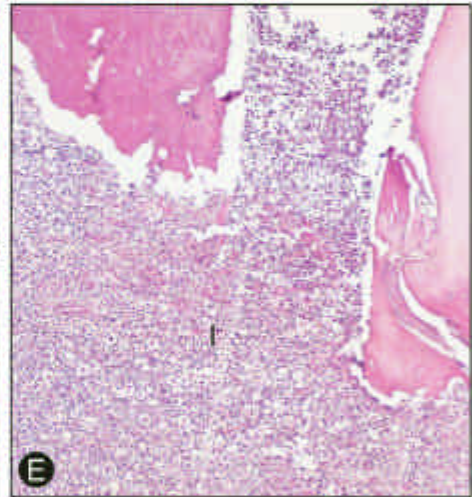
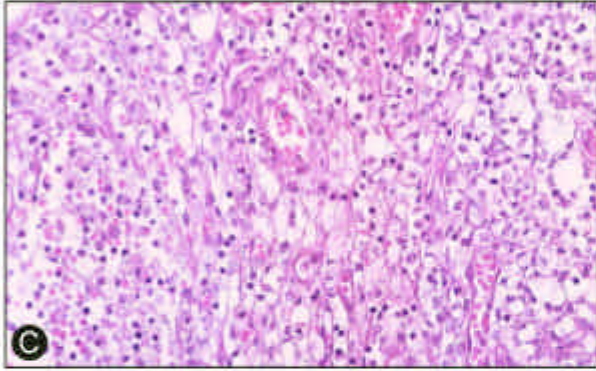
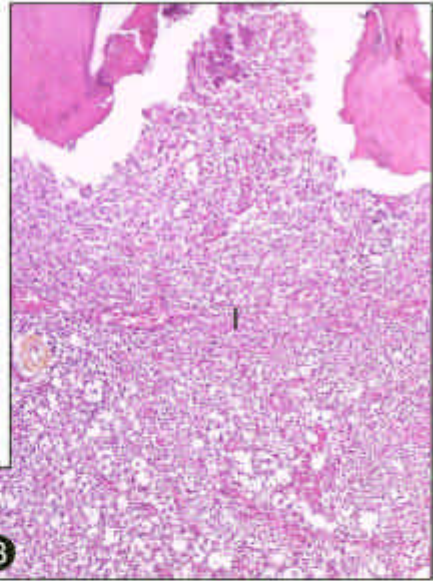
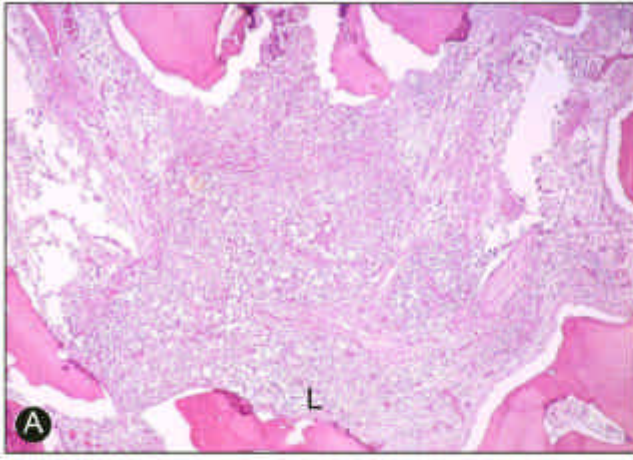
FIGURA 9C - Detalhe da Figura 3B evidenciando infiltrado de células inflamatórias com predomínio de células mononucleares. HE – Olympus - 400 X.

FIGURA 9D – Ligamento periodontal apical com severo espessamento na região periapical (L). HE – Olympus - 40 X.

FIGURA 9E - Maior aumento da Figura anterior evidenciando severo infiltrado de células inflamatórias adjacente ao forame apical (I). HE – Olympus - 100 X.

FIGURA 9F - Visão panorâmica do ápice radicular e região periapical evidenciando ligamento periodontal apical com severo espessamento (L). HE – Olympus - 40 X.

FIGURA 9G - Maior aumento da Figura 3F evidenciando severo infiltrado de células inflamatórias (I) e edema. HE – Olympus - 100 X.



GRUPO II

Solução de Hipoclorito de Sódio a 2,5%

FIGURA 10A - Região periapical com grande área de reabsorção óssea, evidenciando severo aumento do espaço periodontal apical (L). HE – Olympus - 40 X.

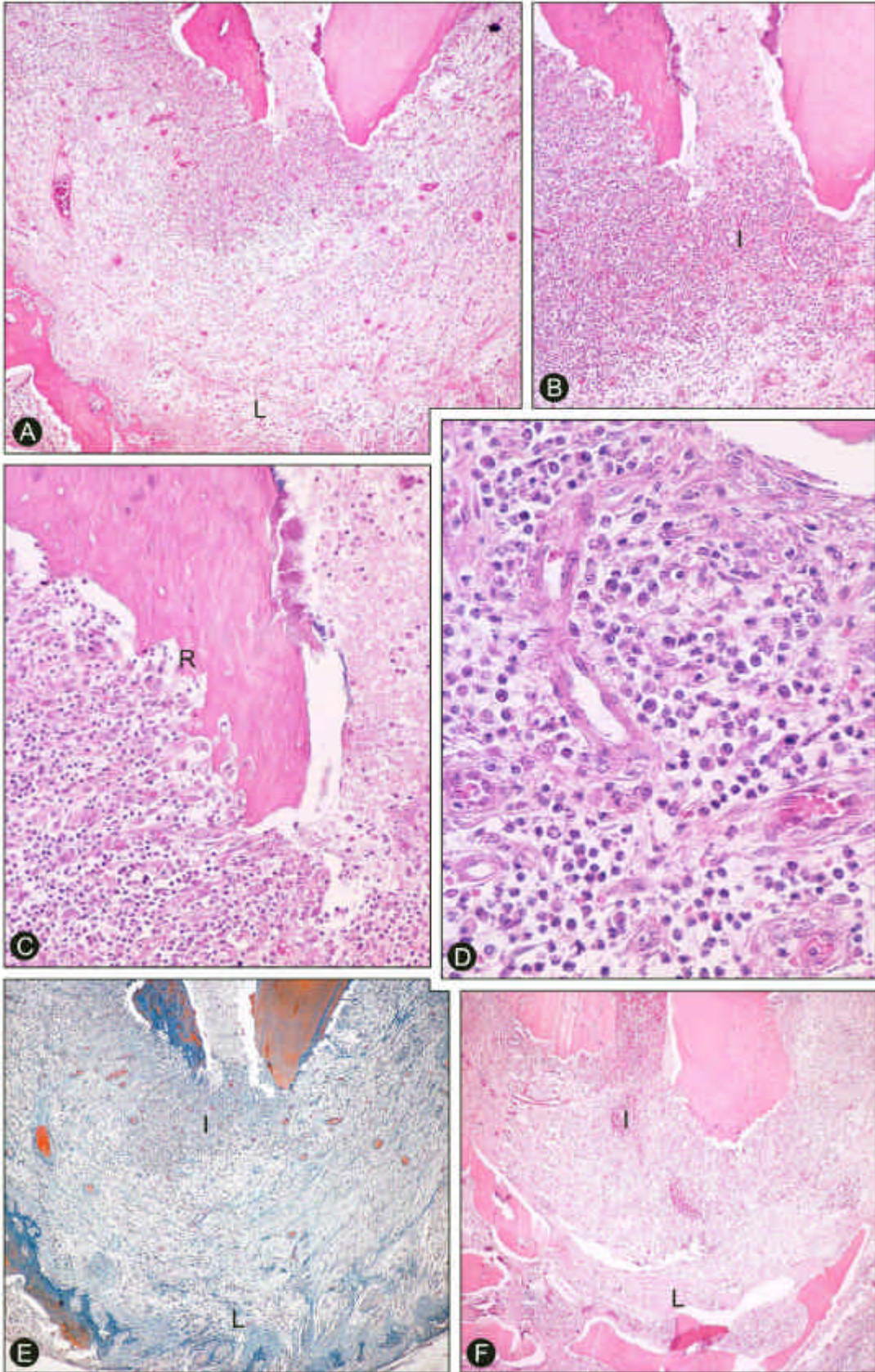
FIGURA 10B – Detalhe da Figura anterior destacando severo Infiltrado de células inflamatórias (I) adjacente ao ápice radicular. HE – Olympus - 100 X.

FIGURA 10C - Detalhe da Figura 4B evidenciando áreas de reabsorção de cimento apical radicular (R).HE- Olympus - 200 X.

FIGURA 10D - Maior aumento da Figura 4B evidenciando o severo infiltrado de células inflamatórias com predomínio de células mononucleares. HE – Olympus – 400X

FIGURA 10E - Região periapical com grande área de reabsorção óssea e apresentando severo infiltrado de células inflamatórias (I) e aumento do espaço periodontal apical (L). Ausência de deposição de feixes de fibras colágenas. Tricrômico de Mallory – Olympus - 40 X.

FIGURA 10F - Região periapical com grande área de reabsorção óssea e apresentando severo infiltrado de células inflamatórias (I) e aumento do espaço periodontal apical (L). . HE- Olympus - 40 X.



5.2.1.3 Grupo 3 - Solução fisiológica.

As 17 raízes observadas apresentaram alterações inflamatórias e reabsorção dos tecidos mineralizados na região apical e periapical.

O infiltrado de células inflamatórias era composto por células predominantemente crônicas, sendo atribuído grau severo em todos casos deste grupo. A invasão do infiltrado de células inflamatórias em relação ao espaço periodontal periapical foi intensa, com extensão para toda a região periapical em todos os casos.

De modo semelhante, o ligamento periodontal periapical apresentava espessamento severo em todos os espécimes avaliados.

A reabsorção cementária foi observada por toda extensão do cimento em 3 casos, sendo parcial em 14 casos.

O osso alveolar apresentou reabsorção ativa envolvendo grandes áreas em 12 casos. Em 5 espécimes foram observadas pequenas áreas de reabsorção óssea.

GRUPO III

Soro Fisiológico

FIGURA 11A - Visão panorâmica do ápice radicular e região periapical apresentando severo aumento do ligamento periodontal apical (L). HE – Olympus - 40 X.

FIGURA 11B - Detalhe da Figura anterior destacando região periapical com severo Infiltrado de células inflamatórias (I) adjacente ao ápice radicular. HE – Olympus - 100 X.

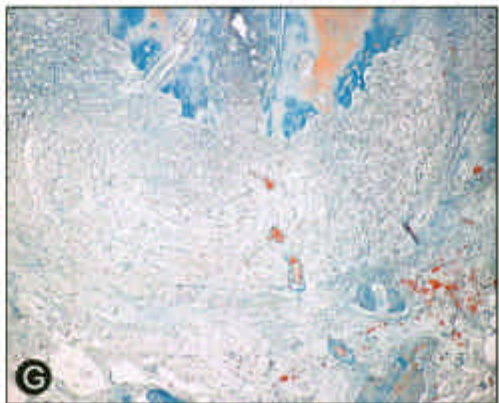
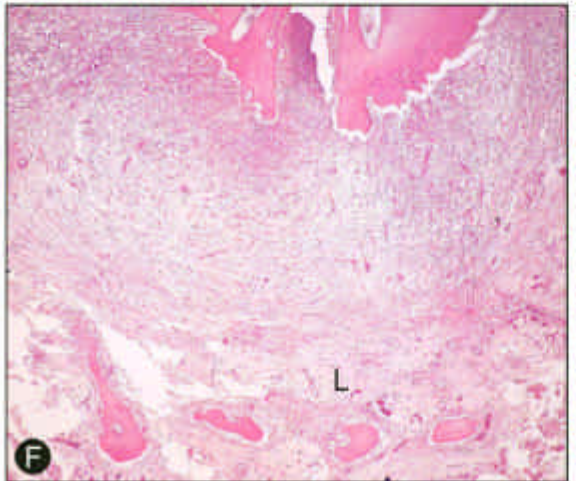
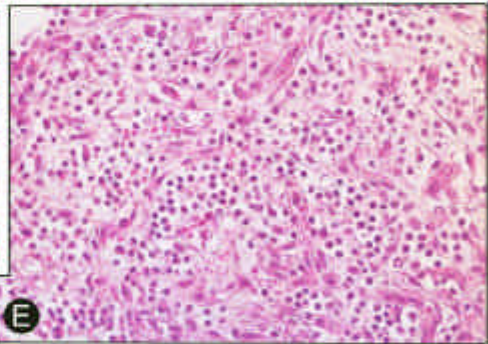
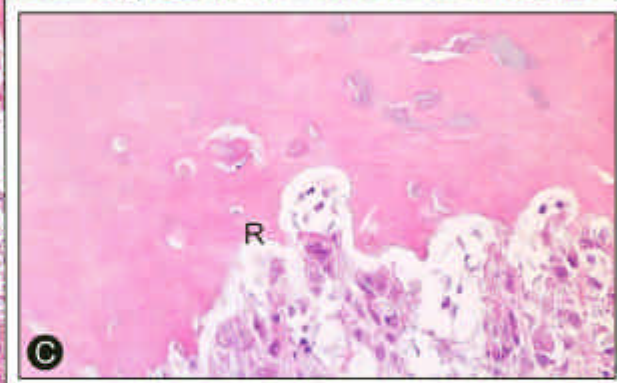
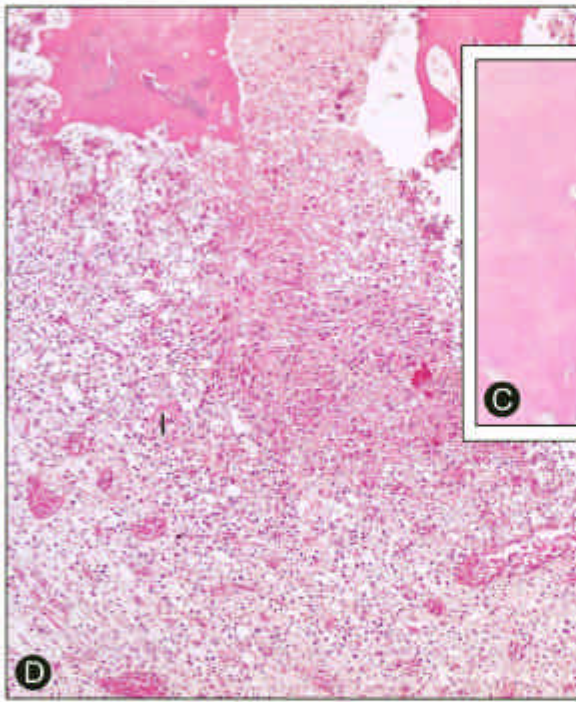
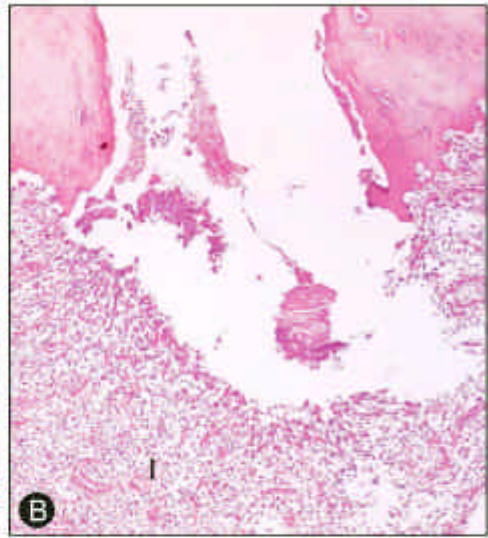
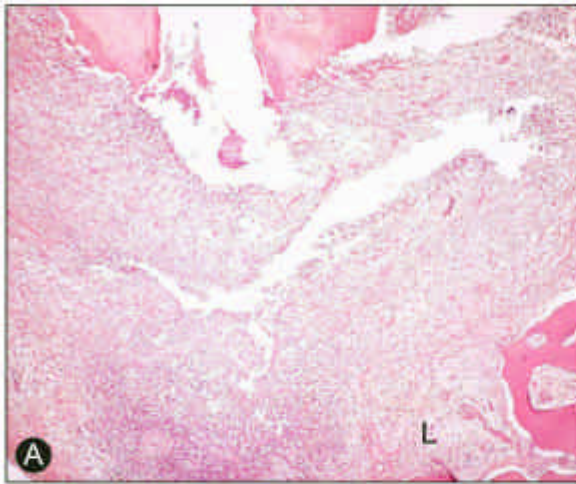
FIGURA 11C – Detalhe do ápice radicular da Figura 5A, destacando a reabsorção cementária (R). HE – Olympus - 400 X.

FIGURA 11D - Ápice radicular e região periapical evidenciando severo Infiltrado de células inflamatórias difuso na região adjacente ao ápice (I). HE- Olympus - 100 X.

FIGURA 11E - Maior aumento da figura 5D evidenciando o severo infiltrado de células inflamatórias com predomínio de células mononucleares. HE – Olympus – 400X

FIGURA 11F - Visão panorâmica do ápice radicular e região periapical apresentando severo aumento do ligamento periodontal apical (L). HE – Olympus - 40 X.

FIGURA 11G - Visão panorâmica da Figura anterior apresentando grande destruição óssea e ausência de formação de feixes de fibras colágenas. Tricrômico de Mallory – Olympus - 40 X.



5.2.1.4 Grupo 4, Controle – sem preparo biomecânico.

Foram avaliadas 15 raízes neste grupo experimental. Em todos espécimes foram observadas alterações inflamatórias e reabsorção dos tecidos mineralizados na região apical e periapical.

De modo geral o infiltrado de células inflamatórias era composto por células predominantemente crônicas, sendo severo em todos os casos. A presença de vascularização, com pequena formação de fibras colágenas, foi observada na periferia da lesão periapical. Na coloração de Tricrômico de Mallory foi observada pequena presença de fibras colágenas nas áreas periféricas.

Os infiltrados inflamatórios foram extensos, invadindo grande parte do espaço periodontal periapical nos 15 casos. O ligamento periodontal mostrou-se severamente espessado em 14 casos e moderadamente espessado em 1 caso.

Reabsorções cementárias foram observadas envolvendo toda extensão do cimento em 6 casos e com envolvendo o cimento parcialmente em 9 espécimes.

No osso alveolar nos limites da lesão periapical foi observada reabsorção do tecido ósseo envolvendo pequenas áreas em 4 casos e em grandes áreas em 11 espécimes.

GRUPO IV

Controle

FIGURA 12A - Região periapical com grande área de reabsorção óssea, evidenciando severo aumento do espaço periodontal apical (L). HE – Olympus - 40 X.

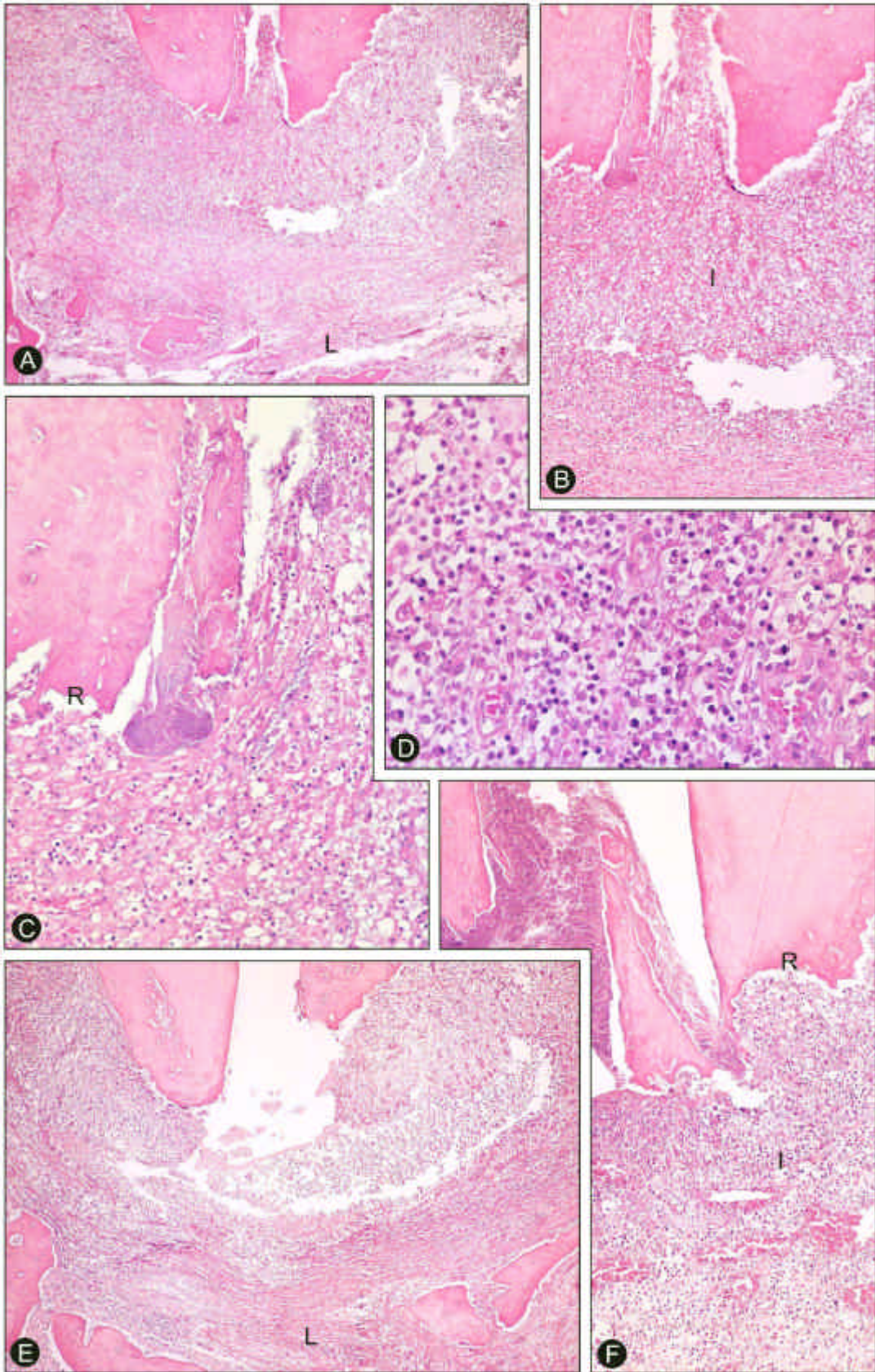
FIGURA 12B – Detalhe da Figura anterior destacando região periapical com severo infiltrado de células inflamatórias (I) adjacente ao ápice radicular. HE – Olympus - 100 X.

FIGURA 12C - Detalhe da Figura 4B evidenciando áreas de reabsorção de cimento apical radicular (R).HE- Olympus - 200 X.

FIGURA 12D - Maior aumento da Figura 4B evidenciando o severo infiltrado de células inflamatórias com predomínio de células mononucleares. HE – Olympus – 400X

FIGURA 12E - Região periapical com grande área de reabsorção óssea e apresentando severo aumento do espaço periodontal apical (L). HE – Olympus - 40 X.

FIGURA 12F - Detalhe do ápice radicular destacando área de reabsorção de cimento (R) e infiltrado de células inflamatórias (I) adjacente ao ápice. HE- Olympus - 200 X.



5.2.2 Resultados estatísticos da avaliação histopatológica.

As Tabelas 9 a 18 apresentam dados dos resultados do teste de Kruskal-Wallis, a soma dos postos e postos médios de cada grupo experimental. Nos casos de diferença significativa, uma tabela complementar mostra as comparações individuais entre os grupos (Teste de Dunn ou Mann-Whitney). Uma análise final foi realizada considerando todos os dados dos cinco aspectos histopatológicos estudados, representada na Tabela 19.

5.2.2.1. Do parâmetro infiltrado inflamatório periapical.

Tabela 9- Dados da comparação pelo teste de Kruskal-Wallis, relacionados ao parâmetro infiltrado de células inflamatórias.

Grupo	Soma dos postos	Posto médio	Número
G1 CHX	510,0	28,33	18
G2 NaOCl	695,0	34,75	20
G3 Soro	680,0	40,0	17
G4 Controle	680,0	40,0	15
Hc=11.374317		Probabilidade=,009864799282	

Tabela 10- Dados do teste de Mann-Whitney, comparando individualmente os grupos 1x3.

Grupo	Soma dos postos	Número	Posto médio
G1 CHX	273,0	18	15,1667
G3 Soro	357,0	17	21,0
Z= 2,5775		Probabilidade=.009950828	

Tabela 11- Dados do teste de Mann-Whitney, comparando individualmente os grupos 1x4.

Grupo	Soma dos postos	Número	Posto médio
G1 CHX	261,0	18	14,5
G4 Controle	300,0	17	20,0
Z= 2,4343		Probabilidade=.014919696	

Para o parâmetro infiltrado inflamatório periapical o teste de Kruskal-Wallis apontou diferença significativa entre os grupos. Porém, pelo teste de Dunn não foi possível a detecção desta diferença. Quando aplicado o teste de Mann-Whitney entre os grupos que mostraram os postos médios extremos foi observado que o grupo 1 (CHX) obteve melhor resultado que os grupos 3 (Soro) e 4 (Controle) com diferença significativa ($p < 0,05$).

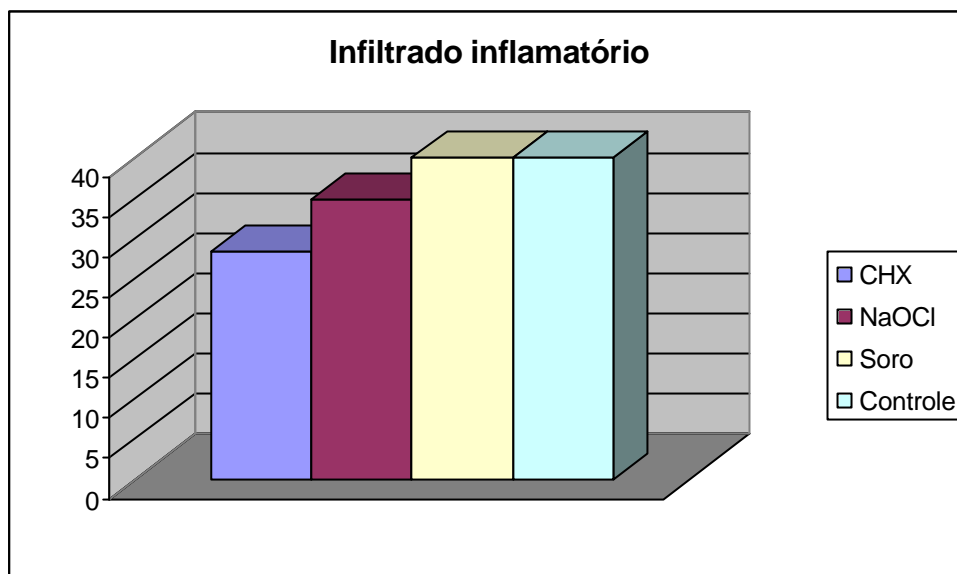


FIGURA 13 - Representação gráfica dos postos médios para o infiltrado inflamatório periapical.

5.2.2.2. Do parâmetro extensão do infiltrado inflamatório.

Tabela 12- Dados da comparação pelo teste de Kruskal-Wallis, relacionados ao parâmetro extensão do infiltrado inflamatório.

Grupo	Soma dos postos	Posto médio	Número
G1 CHX	536,0	29,75	18
G2 NaOCl	685,0	34,25	20
G3 Soro	671,5	39,5	17
G4 Controle	592,5	39,5	15

Hc=9,0036962 Probabilidade=,029241783399

Tabela 13- Dados do teste de Mann-Whitney, comparando individualmente os grupos 1x3.

Grupo	Soma dos postos	Número	Posto médio
G1 CHX	281,5	18	15,6389
G3 Soro	348,5	17	20,50
Z= 2,3134		Probabilidade=.020700274	

Tabela 14- Dados do teste de Mann-Whitney, comparando individualmente os grupos 1x4.

Grupo	Soma dos postos	Número	Posto médio
G1 CHX	268,5	18	14,9167
G4 Soro	292,5	15	19,5
Z= 2,1822		Probabilidade=.029096332	

Pelos postos médios o melhor desempenho, no parâmetro de extensão do infiltrado inflamatório, foi do grupo 1, seguido pelos grupos 2, 3 e 4. Novamente, pela proximidade dos dados, o teste de Kruskal-Wallis apontou diferença, não detectada pelo teste de Dunn. O teste de Mann-Whitney apontou diferença entre os grupos que apresentaram maior e menor posto médio. Pode-se desta forma determinar que o grupo 1 (CHX) obteve melhor resultado que os grupos 3 (Soro) e 4 (Controle) com diferença significativa ($p < 0,05$).

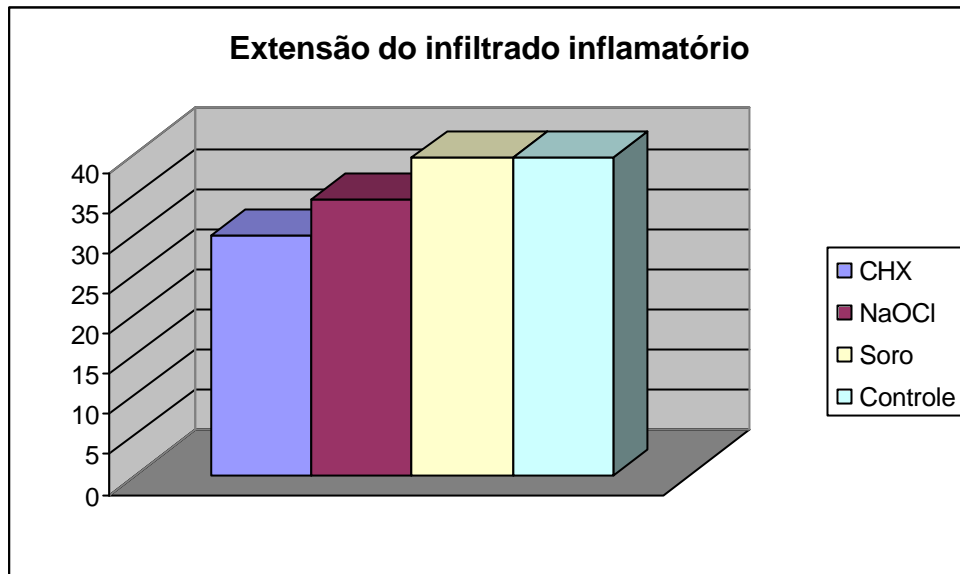


FIGURA 14 - Representação gráfica dos postos médios para a extensão do infiltrado inflamatório periapical.

5.2.2.3. Do parâmetro espessura do ligamento periodontal.

Tabela 15- Dados da comparação pelo teste de Kruskal-Wallis, relacionados ao parâmetro espessura do ligamento periodontal periapical.

Grupo	Soma dos postos	Posto médio	Número
G1 CHX	675,0	37,5	18
G2 NaOCI	645,0	32,25	20
G3 Soro	637,5	37,5	17
G4 Controle	527,5	35,17	15
Hc=9,0036962		Probabilidade=,029241783399	

Com relação a espessamento do ligamento periodontal os grupos experimentais podem ser ordenados do melhor para o pior desta forma: grupo 2, 1, 3 e 4. Porém não foram estatisticamente diferentes entre si.

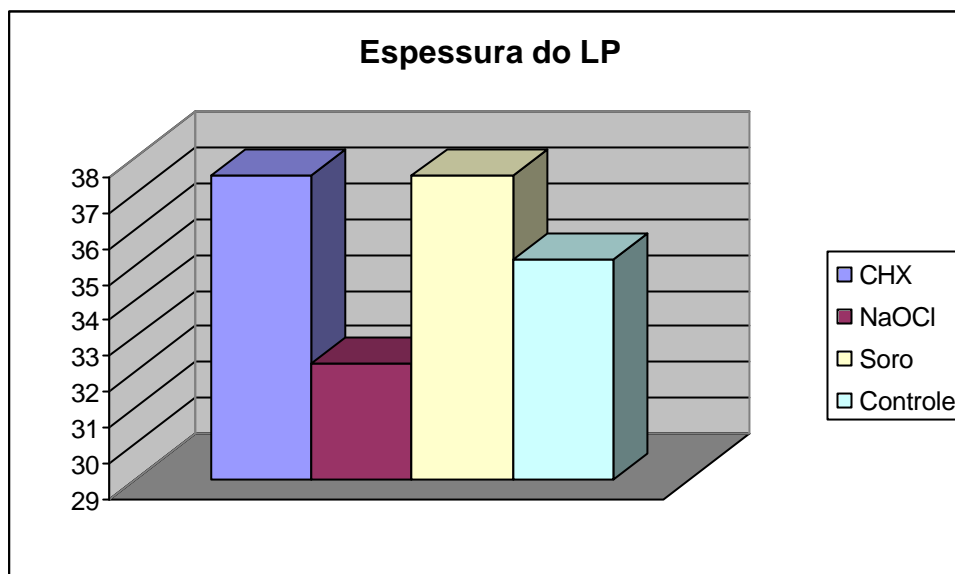


FIGURA 15 - Representação gráfica dos postos médios para a espessura do ligamento periodontal periapical.

5.2.2.4. Do parâmetro reabsorção apical.

Tabela 16- Dados da comparação pelo teste de Kruskal-Wallis, para a reabsorção apical.

Grupo	Soma dos postos	Posto médio	Número
G1 CHX	883,0	49,06	18
G2 NaOCl	624,0	31,20	20
G3 Soro	459,0	27,00	17
G4 Controle	519,0	34,60	15
Hc=16,006658		Probabilidade=,001130425921	

Tabela 17- Dados do teste de Dunn, comparando individualmente os grupos.

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
G1xG2	17,86	17,444	Sig. P<0,05
G1xG3	22,0	18,158	Sig. P<0,01
G1xG4	14,20	18,771	Não sig.
G2xG3	4,20	17,712	Não sig.
G2xG4	-3,40	18,339	Não sig.
G3xG4	-7,60	19,20	Não sig.

Quando analisada a reabsorção apical, o menor posto médio foi apresentado pelo grupo 3, seguido pelos grupos 2, 4 e 1. O resultado do teste de Dunn confirma a diferença mostrada pelo teste de Kruskal-Wallis. A Tabela 17 mostra diferença entre os grupos 1 (CHX) quando comparado com os grupos 2 (NaOCl)($p<0,05$) e 3 (Soro) ($p<0,01$).

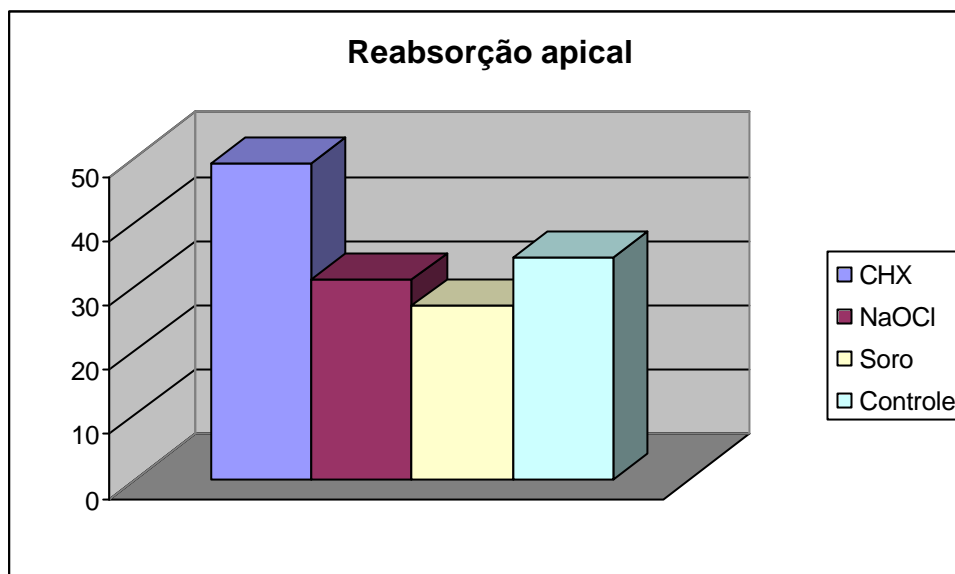


FIGURA 16- Representação gráfica dos postos médios para reabsorção apical.

5.2.2.5. Do parâmetro reabsorção óssea.

Tabela 18- Dados da comparação pelo teste de Kruskal-Wallis, para a reabsorção óssea.

Grupo	Soma dos postos	Posto médio	Número
G1 CHX	576,0	32,0	18
G2 NaOCl	640,0	32,0	20
G3 Soro	666,5	39,21	17
G4 Controle	602,5	40,17	15

Hc=3,4387255 Probabilidade=,328796605007

Com relação a reabsorção óssea observada nos grupos experimentais, a avaliação estatística considerou não

haver diferença significativa. Os grupos 1 e 2 mostraram menor posto médio, seguidos pelos grupos 3 e 4.

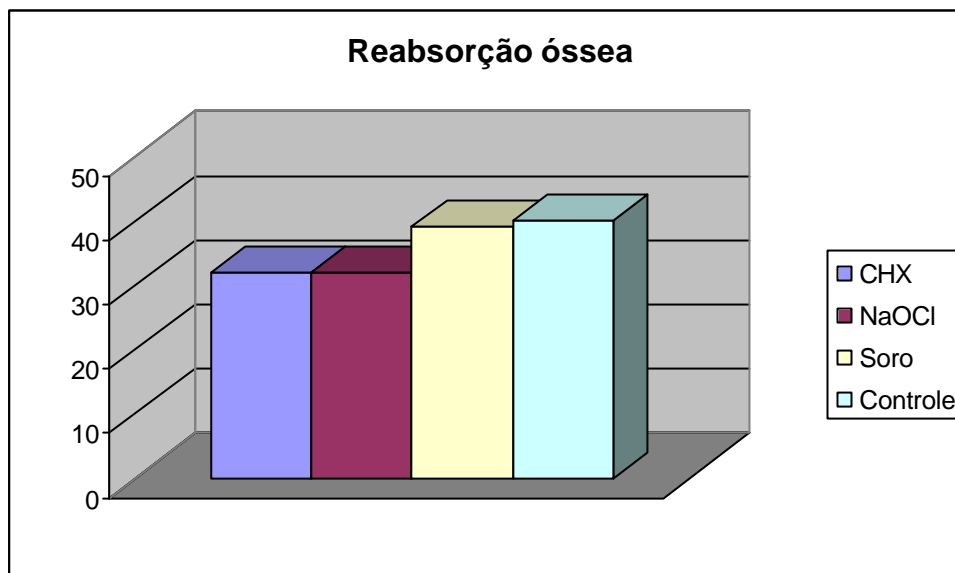


FIGURA 17- Representação gráfica dos postos médios para reabsorção óssea.

5.2.2.6. Da análise global dos parâmetros.

A análise global dos aspectos histológicos estudados permite a ordenação dos grupos, de acordo com seu posto médio, desta forma: 1º Grupo 2 (NaOCl); 2º Grupo 1 (CHX); 3º Grupo 3 (Soro); 4º Grupo 4 (Controle). Contudo não se observou diferença estatística entre eles.

Tabela 19- Dados da comparação pelo teste de Kruskal-Wallis, para a análise global.

Grupo	Soma dos postos	Posto médio
G1 CHX	15264,0	169,60
G2 NaOCl	16555,5	165,56
G3 Soro	15672,0	184,38
G4 Controle	13933,0	185,78
Hc=3,8960882		Probabilidade=,27290551664

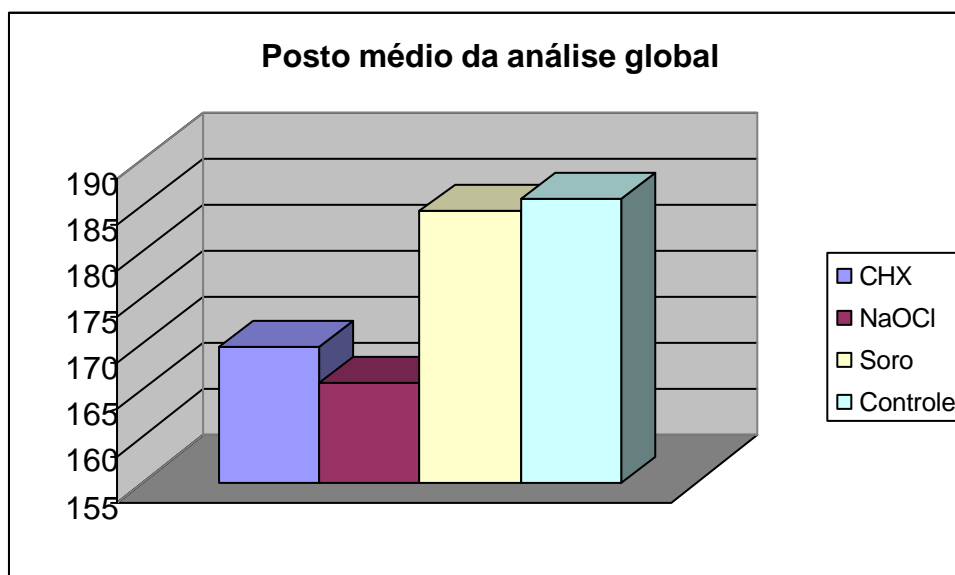


FIGURA 18- Representação gráfica dos postos médios apresentados na análise global.

DISCUSSÃO

6. Discussão

6.1. Modelo experimental

Os testes de compatibilidade biológica determinados pela ISO (ISO 7405-1997)⁶⁸ são divididos em três grupos. O grupo I envolve os testes de citotoxicidade *in vitro*, como aqueles realizados em culturas de células. Ao grupo II pertencem aqueles realizados em tecido subcutâneo ou efeitos locais após implante de materiais, utilizando como modelos experimentais os roedores. O grupo III está relacionado aos testes de uso clínico em animais como macacos ou cães, buscando reproduzir as condições clínicas das fases do tratamento endodôntico e possibilitando avaliação histopatológica da resposta dos tecidos apicais e periapicais.

A seleção de um modelo animal de experimentação depende de uma série de fatores como: padrão mastigatório, resistência à infecção, tamanho e morfologia dental compatíveis com o humano. Também, o padrão de crescimento deve ser semelhante ao do homem, porém, rápido o suficiente para que se obtenha resposta em menor período de tempo (Rowe¹²¹, 1980).

Os cães, utilizados neste estudo como modelo experimental são animais de fácil obtenção e de manutenção viável economicamente. São animais fáceis de serem anestesiados e, com resistência a prolongados períodos de anestesia. Além disso, o cão apresenta dentes com estruturas mineralizadas, dentina e cemento, semelhantes às do homem, assim como o processo de reparo (Citrome³¹, 1979). Rowe¹²¹ (1980) relatou que o cão apresenta crescimento rápido, o que permite a obtenção de resultados em menores períodos de tempo.

O cão, como modelo animal de experimentação tem sido empregado em uma grande quantidade de pesquisas relacionadas a endodontia, como os realizados por Holland et al.^{63, 64, 65}(1978, 1983, 1992); Pitt Ford^{113, 114}(1982, 1984); Allard et al.⁴ (1987); Silva^{131, 132}(1988, 1991); Bonetti Filho^{18, 19} (1990, 2000); Sonat et al.¹⁴⁷(1990); Leonardo et al.^{80, 81, 84, 86, 88} (1993, 1994, 1995, 1996, 1997); Tanomaru Filho et al.^{160, 161} (1998,2002); Katebzadeh et al.⁷¹ (1999); Shabanhang et al.¹²⁸ (1999); Soares¹⁴⁶ (1999); Otoboni Filho¹⁰⁸ (2000); Nelson Filho¹⁰¹ (2000); Mattos⁹⁶ (2001); Tanomaru et al.¹⁵⁷ (2003).

Os cães utilizados neste experimento apresentavam idade aproximada de 1 ano, sendo utilizados os segundos, terceiros e quartos pré-molares inferiores e os segundos e terceiros pré-molares superiores, os quais foram selecionados por apresentarem semelhança anatômica, igual número de raízes e canais radiculares amplos e retos, permitindo maior padronização dos procedimentos técnicos durante o tratamento endodôntico e processamento histopatológico (Silva^{131, 132}, 1988, 1991; Leonardo et al.^{80, 81}, 1994, 1995; Soares¹⁴⁶, 1999).

Optou-se pela manutenção da cúspide oclusal, com o objetivo de diminuir a ocorrência de fraturas coronárias, sendo esta considerada como área de reforço (Barker e Lockett¹⁰, 1971; Berbert¹⁴, 1978; Silva^{131, 132}, 1988, 1991; Leonardo et al.⁸⁰, 1994).

6.2. Indução experimental das lesões periapicais.

Com o objetivo de induzir lesões periapicais, foi utilizada a metodologia preconizada por Leonardo et al.⁸⁶ (1993). Assim, após abertura

coronária dos pré-molares em estudo e remoção da polpa radicular, a cavidade pulpar permaneceu exposta ao meio bucal, pelo período de 7 dias, com finalidade de contaminação dos canais radiculares pelos microrganismos da cavidade bucal, sendo posteriormente realizado o selamento coronário, o qual foi mantido até a observação radiográfica de áreas periapicais radiolúcidas.

Essa metodologia tem sido empregada por autores como Leonardo et al.^{80, 81, 86} (1993, 1994, 1995); Alencar³ (1995); Silveira¹³⁵ (1997); Tanomaru Filho et al.^{160, 161} (1998, 2002); Soares¹⁴⁶ (1999); Shabanhang¹²⁸ (1999); Berbert¹⁵ (1999); Bonetti Filho¹⁹ (2000); Mattos⁹⁶ (2001).

Shabanhang et al.¹²⁸ (1999), preconizaram essa metodologia como sendo a de escolha para indução de lesões periapicais em dentes cães, conforme descrito por Leonardo et al.⁸⁶ (1993), destacando as vantagens dessa técnica. Walton e Ardjamand¹⁶⁶ (1992); Fouad et al.^{44, 45} (1992, 1993); e Tanomaru Filho¹⁵⁸ (1996) concordam que o selamento da abertura coronária, após a contaminação dos canais radiculares pelo meio bucal, reduz o tempo necessário para a formação das lesões periapicais. Seguindo esta metodologia a confirmação radiográfica das lesões periapicais ocorre num período de aproximadamente 45 a 60 dias após selamento coronário, conforme relato de Leonardo et al.⁸⁶ (1993).

Poliseli Neto¹¹⁶, em 2002, utilizando os métodos de indução de lesão periapical com ou sem selamento coronário observou que, quando ocorria o selamento das câmaras pulpares, a formação da lesão periapical era mais rápida do que quando as mesmas permaneciam abertas, sendo semelhantes os resultados radiográficos quanto à dimensão das lesões induzidas nos dois métodos.

Os pré-molares de cães apresentam canais radiculares amplos e retos, cujas porções apicais radiculares apresentam formação de delta apical com várias ramificações, diferindo do ápice radicular do dente humano, o qual apresenta normalmente um forame principal e algumas foraminas. Com a finalidade de se criar uma condição experimental mais próxima à do dente humano, e para permitir padronização da abertura apical, realizou-se o arrombamento do ápice radicular dos dentes dos cães com lima tipo K até a de número 30.

O arrombamento apical foi realizado até a lima tipo K de número 30, baseado no trabalho de Bonetti Filho¹⁸ (1990); Silva¹³³ (1995); Tanomaru Filho et al.¹⁶¹ (1998). A padronização do diâmetro de arrombamento da abertura apical é importante, pois mantém semelhante o diâmetro da área de contato de materiais utilizados durante o tratamento endodôntico com a região periapical e, conseqüentemente eliminando uma variável durante a avaliação histopatológica da região apical e periapical.

6.3. Tratamento endodôntico

6.3.1. Preparo Biomecânico

O preparo biomecânico foi realizado em condições de isolamento absoluto, respeitando os critérios de anti-sepsia e esterilização do material e instrumental.

Após comprovação radiográfica das lesões periapicais, 60

dias após o selamento coronário, sob isolamento absoluto do campo operatório, a neutralização do conteúdo séptico/tóxico foi realizada no sentido coroa-ápice, sem pressão (Leonardo, et al.⁸², 1998), utilizando-se as limas tipo K e as soluções irrigadoras avaliadas. Esta técnica de neutralização foi também utilizada por vários autores como Tanomaru Filho^{158, 159} (1996, 2001); Silveira¹³⁵ (1997); Berbert¹⁵ (1999); Grecca⁵¹ (1999) e Soares¹⁴⁶ (1999).

Dentre os objetivos do presente estudo, teve-se como proposta avaliar efeito antimicrobiano proporcionado pelo preparo biomecânico com as diferentes soluções irrigadoras e a reparação dos tecidos apicais e periapicais em dentes de cães com lesão periapical, 30 dias após o preparo biomecânico.

Foi realizada a padronização da quantidade de solução irrigadora desde o início do tratamento, assim como a cada troca de instrumento, uma vez que a redução das bactérias do canal radicular é dependente do volume do irrigante utilizado durante o tratamento endodôntico (Byström e Sundqvist²⁵, 1985; Sjögren e Sundqvist¹⁴², 1987).

Em todos os grupos, para a instrumentação, optou-se pela técnica clássica, de acordo com Leal⁷⁵, 1998, uma vez que os canais radiculares dos pré-molares de cães são retos, amplos e de fácil acesso. O preparo biomecânico foi realizado até a lima de número 70, exceto para o segundo pré-molar inferior, o qual apresenta menor diâmetro inicial, permitindo adequada dilatação do canal radicular. Segundo Shovelton¹²⁹ (1964), Armitage⁷ (1983); Ando e Hoshiro⁶ (1990); Leonardo et al.⁸⁰ (1994); Nagaoka et al.¹⁰⁰ (1995); Ribeiro¹¹⁹ (1997); Silveira¹³⁵ (1997) e Soares¹⁴⁶ (1999), os dentes portadores de necrose pulpar e lesão periapical crônica refletem uma infecção endodôntica de longa duração, estando as bactérias distribuídas em todo o

sistema de canais radiculares. Por esse motivo, com relação ao preparo biomecânico, a dilatação dos canais radiculares até a lima K número 60/70, permitiu maior remoção de massa dentinária contaminada. Concordando com este fato, Orstavik et al.¹⁰⁷ (1991), observaram que a maior dilatação do canal radicular proporcionou menor incidência de cultura bacteriana positiva.

O preparo biomecânico gera uma camada amorfa, composta por raspas de dentina, restos orgânicos e eventualmente bactérias denominada *smear layer* (MCComb e Smith⁹⁴, 1975) ou camada residual (Leonardo⁷⁸, 1998). Esta camada pode funcionar como barreira, isolando as paredes do canal do efeito de medicamentos e impedindo o contato direto do cimento obturador. Clinicamente recomenda-se a remoção da camada residual com a associação do emprego da solução de hipoclorito de sódio durante o preparo biomecânico e da solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ao final, pois uma única solução irrigadora não é capaz de fazê-lo (Baungartner e Cuenin¹², 1992; Sen et al.¹²⁷, 1995; Yamashita et al.¹⁷³, 2003). Simulando a situação clínica, os canais foram inundados com EDTA ao final do preparo biomecânico, e agitados manualmente, durante 3 minutos, com lima endodôntica. A exposição dos túbulos dentinários permitiria com maior facilidade reinfecção do canal principal por microrganismos presentes no sistema de canais radiculares, possibilitando melhor avaliação do efeito do preparo biomecânico e das soluções irrigadoras sobre a diminuição da microbiota do sistema de canais radiculares. A presença da camada residual retardaria esta invasão microbiana, porém impediria o contato direto do material obturador com as paredes do canal radicular e retardaria a ação de medicamentos nele depositados (Ostarvik e Haapasalo¹⁰⁶, 1990; Sen et al.¹²⁷,

1995).

Para o selamento das cavidades oclusais, foi utilizado o cimento de ionômero de vidro sobre uma base de cimento de poliacrilato de zinco. O ionômero de vidro tem sido recomendado para este fim devido às suas excelentes propriedades como: resistência à compressão, vedamento marginal. É um dos materiais recomendados pela norma 7405 da ISO⁶⁸ para estudos de longa duração. Desta forma diminui-se o risco de infiltração via coronária.

6.3.2. Soluções irrigadoras: Hipoclorito de sódio e clorexidina.

Dentre as soluções irrigadoras estudadas, a solução de hipoclorito de sódio, em diferentes concentrações, é a de uso mais difundido mundialmente (Baumgartner e Cuenin¹², 1992; Walton e Rivera¹⁶⁷, 1996; West e Roane.¹⁶⁹,2000; Estrela et al.³⁷, 2002). A recomendação da mesma em endodontia iniciou-se nos anos 20, permanecendo sua indicação até o presente momento (Santa Cecília¹²², 1999). Apresenta como características importantes a ação antimicrobiana e capacidade de dissolver tecidos orgânicos. Ao mesmo tempo, especialmente em maiores concentrações, a solução de hipoclorito de sódio pode ser irritante aos tecidos periapicais, com inúmeros relatos de injeção acidental além ápice e conseqüentes reações teciduais agudas (Hauman e Love⁵⁶, 2003).

As soluções empregadas neste estudo foram corretamente tituladas quanto às suas concentrações, previamente ao seu emprego, uma vez

que a concentração de cloro ativo presente na solução é de fundamental importância, sendo sua ação bactericida e dissolvente de tecido orgânico proporcional à concentração (Byström e Sundqvist²⁴, 1983, Foley et al.⁴³, 1983, Sundqvist et al.¹⁵², 1989; Estrela et al.³⁷, 2002; Ayhan et al.⁸, 1999; Hauman e Love⁵⁶, 2003). Desta forma, existe a preocupação de equacionamento do poder antimicrobiano e capacidade de dissolução de tecido orgânico com a tolerância tecidual da solução. Spangberg et al.¹⁴⁸ (1974) recomenda a concentração de 0,5%. Outros autores concordam que nas concentrações menores a solução de hipoclorito de sódio apresenta menor ação antimicrobiana (Harrison et al.⁵⁸, 1990; Siqueira et al.¹³⁷, 1999; Siqueira et al.¹³⁸, 2000), poder de dissolução de matéria orgânica (Grossman e Meiman⁵³, 1941; Gordon, et al.⁴⁹, 1981; Hasselgren et al.⁵⁹, 1988; Yang et al.¹⁷⁴, 1995; Só et al.¹⁴⁵, 1997) e capacidade de limpeza (Baumgartner e Cuenin¹², 1992). Considerando as propriedades físico-químicas e biológicas da solução de hipoclorito de sódio, Leonardo⁷⁸ (1998) recomenda, para tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar e lesão periapical, a utilização da solução de hipoclorito de sódio a 2,5%.

Paralelamente, a solução de digluconato de clorexidina, considerada como um bisguanídeo catiônico apresenta ação antimicrobiana, sendo ativa contra microrganismos gram-positivos e gram-negativos, esporos, vírus lipofílicos, blastóforos e dermatófitos, com ação bacteriostática em baixas concentrações e bactericida em concentrações maiores (Greenstein et al.⁵²⁹, 1986; Jeansonne e White⁶⁹, 1994; Leonardo et al.⁸⁹, 1999). Foi sugerida como solução irrigadora endodôntica ou mesmo, curativo de demora por Delany et al.³⁴ em 1982.

Como solução irrigadora endodôntica, no entanto, a solução de clorexidina não apresenta satisfatória capacidade de limpeza, sendo esta semelhante a da solução fisiológica, e inferior a da solução de hipoclorito de sódio, quando observado por meio da MEV (Yamashita et al.¹⁷³, 2003). Por outro lado, estudos avaliando o selamento apical de dentes cujo preparo biomecânico foi realizado com solução de clorexidina ou de hipoclorito de sódio, mostraram não haver diferença significativa entre os grupos experimentais (Marley et al.⁹⁵, 2001; Ferguson et al.³⁹, 2003).

Vários autores confirmam a atividade *in vitro* da clorexidina contra os microrganismos envolvidos nas infecções endodônticas (Delany et al.³⁴, 1982, Jeansone e White⁶⁹, 1994, White et al.¹⁷⁰, 1997) inclusive contra *E. faecalis* (Orstarvik e Haapasalo¹⁰⁶, 1990, Komorowski et al.⁷³, 2000, Lenet et al.⁷⁷, 2000, Lima et al.⁹⁰, 2001, Almyroudi, et al.⁵ 2002) e fungos (Sen et al.¹²⁶, 1999, Basson e Tait¹¹, 2001, Leonardo et al.⁸⁷, 2001, Ferguson et al.⁴⁰, 2002). A concentração de 2% tem sido recomendada (Jeansonne e White⁶⁹, 1994, White et al.¹⁷⁰, 1997, Leonardo et al.⁸⁹, 1999; Tanomaru Filho¹⁵⁹, 2001). No controle das infecções endodônticas é necessária a ação sobre as endotoxinas. Porém, as soluções irrigadoras endodônticas, clorexidina e hipoclorito de sódio, são ineficazes na neutralização do LPS bacteriano (Aibel e Stevens², 1999, Buck et al.²³, 2001, Tanomaru¹⁵⁶, 2002).

A solução de clorexidina apresenta propriedades biológicas satisfatórias (Yelsilsoy et al.¹⁷⁵ 1995; Onçag et al.¹⁰⁵, 2003). Tanomaru Filho et al.¹⁶² (2002) após injeção de soluções irrigadoras na cavidade peritoneal de camundongos, demonstraram resposta inflamatória semelhante para solução de

hipoclorito de sódio a 0,5% e solução de clorexidina a 2%. Alguns autores, porém, alertam sobre o risco de ocorrências de hipersensibilidade mediata ou imediata (Knight et al.⁷², 2001; Lauerma⁷⁵, 2001; Hauman e Love⁵⁶, 2003). Mais uma característica desfavorável da clorexidina é a possibilidade de causar corrosão nos instrumentos metálicos, de forma semelhante a promovida pela solução de NaOCl (Oztan et al.¹¹⁰, 2002).

Kuruvilla e Kamath⁷⁴ (1998) sugerem a irrigação associado-se as soluções de hipoclorito de sódio com clorexidina, acreditando numa potencialização de efeito antimicrobiano. White et al.¹⁷¹ (1999) e Siqueira Jr et al.¹⁴¹ (2002) demonstraram não existir diferença na atividade antimicrobiana utilizando os irrigantes isoladamente ou combinados.

Além de ser sugerida como solução irrigadora a solução de clorexidina tem sido pesquisada na forma de curativo de demora, em função de sua atividade antimicrobiana residual (Heling et al.⁶², 1992; White et al.¹⁷⁰ 1997; Leonardo et al.⁸⁹ 1999, Komorowski et al.⁷³, 2000, Lenet et al.⁷⁷, 2000; Weber et al.¹⁶⁸, 2003).

6.4. Avaliação da microbiota endodôntica.

A microbiota presente nos canais radiculares foi avaliada anteriormente ao preparo biomecânico, ou seja, após o período de indução das lesões periapicais e 30 dias após o mesmo. A avaliação da presença bacteriana imediatamente após o preparo biomecânico estaria relacionada a

ação do mesmo apenas na luz do canal radicular e massa dentinária adjacente. Desta forma, para análise da eficiência do preparo biomecânico na diminuição da microbiota presente no sistema de canais radiculares torna-se necessária a avaliação decorrido algum período de tempo após o preparo biomecânico. Têm sido observados períodos variáveis para avaliação, de 48 horas a 10 dias (Byström e Sundqvist^{24, 25}, 1983, 1985; Leonardo e Azevedo⁹, 1983; Sjögren e Sundqvist¹⁴², 1987; Gomes et al.⁴⁷, 1996). No presente estudo a avaliação da microbiota foi realizada 30 dias após o preparo biomecânico. Este período torna-se importante para avaliar a possibilidade de reinfecção do canal radicular por microrganismos remanescentes do preparo biomecânico, presentes no sistema de canais radiculares (Byström e Sundqvist²⁵, 1985; Sjögren e Sundqvist¹⁴², 1987; Chong e Pitt Ford³⁰, 1992).

Nossos resultados revelaram redução significativa dos microrganismos após o preparo biomecânico empregando solução irrigadora bactericida (hipoclorito de sódio a 2,5% e clorexidina a 2%). Redução significativa da quantidade de microrganismos após o preparo biomecânico empregando soluções bactericidas, tem sido observada por outros estudos (Sydney e Estrela¹⁵⁴, 1996; Sjögren et al.¹⁴⁴, 1997; Leonardo et al.⁸⁹, 1999; Shuping et al.¹³⁰, em 2000).

Contudo, foi possível observar que não ocorreu a eliminação dos microrganismos em nenhum dos grupos, em função da presença dos mesmos no sistema de canais radiculares e possibilidade de reinfecção do canal principal. Concordando com estes resultados, Gomes et al.⁴⁷ (1996), utilizando solução de hipoclorito de sódio a 2,5% durante o preparo biomecânico e realizando uma segunda colheita após 7-10 dias, concluíram

que o preparo biomecânico diminuiu a microbiota endodôntica, mas foi ineficiente na eliminação dos microrganismos.

A clorexidina apresenta ação residual ou substantividade, comprovada por meio de avaliação empregando culturas microbianas, *in vivo*, 48 horas após o preparo biomecânico (Leonardo et al.⁸⁹, 1999). Estudos *in vitro*, sugerem a ação residual da clorexidina usada como curativo de demora por períodos maiores que 14 dias (Komorowsky et al.⁷³, 2000; Lenet et al.⁷⁷ 2000; Almyroudi et al.⁵ 2002). Esta propriedade pode ter contribuído para a maior diminuição da microbiota endodôntica no grupo no qual o preparo biomecânico foi realizado empregando a solução de clorexidina a 2%, uma vez que a ação residual da solução irrigadora poderia diminuir a reinfecção dos canais radiculares (Heling et al.⁶², 1992), ou mesmo a contaminação via coronária (Jung et al.⁷⁰, 1999).

Sendo a microbiota endodôntica em dentes com lesão periapical complexa e múltipla, ainda que predominantemente anaeróbia (Sundqvist¹⁵¹, 1992; Tanni-Ishii et al.¹⁵⁵, 1994; Molander et al.⁹⁸, 1998; Abou-Rass e Bogen¹, 1998), foi necessária a utilização de diversos meios de cultura, contendo diferentes nutrientes e incubados em diferentes condições de ambiente (aerobiose, anaerobiose e microaerofilia) para o isolamento dos microrganismos dos canais radiculares (Alencar³, 1995; Silveira¹³⁵, 1997; Soares¹⁴⁶, 1999). A cultura microbiana traz como vantagem sobre outras metodologias de identificação a avaliação de microrganismos viáveis e estimativas de sua quantidade. Por outro lado existe a limitação da apresentação de resultado falso-negativo na contagem inferior a 30 ufc (Alencar³, 1995; Soares¹⁴⁶, 1999).

Os resultados mostraram na colheita inicial, antes do preparo biomecânico, um grande número de microrganismos e distribuição semelhante entre os grupos. Notamos a predominância de anaeróbios sobre aeróbios e microaerófilos, concordando com estudos anteriores (Sundqvist¹⁵¹, 1992; Gomes et al.⁴⁷, 1996, Sydney e Estrela¹⁵⁴ 1996; Silveira¹³⁵, 1997; Soares¹⁴⁶, 1999). As variações numéricas obtidas ocorreram provavelmente em decorrência das condições anatômicas dos canais radiculares utilizados.

O preparo biomecânico visa a desinfecção do sistema de canais radiculares. Porém, este possui uma natureza complexa, sendo que a colonização microbiana ocorre em toda a massa dentinária, com microrganismos viáveis no interior dos túbulos dentinários (Berutti et al.¹⁷, 1997; Peters et al.¹¹¹, 2001), e mesmo, nas ramificações do canal principal e cemento apical. Outro fator importante que justifica a falha na desinfecção proporcionada pelo preparo biomecânico é a dificuldade da instrumentação atuar em todas as paredes dos canais radiculares. Acredita-se que as instrumentações manuais ou automatizadas mantêm intocadas cerca de 30 a 50% das paredes internas do canal principal (Peters et al.¹¹², 2001; Wu et al.¹⁷², 2003). Ainda, devemos destacar a capacidade de resistência, invasão e colonização dos microrganismos, formando inclusive biofilmes apicais nos casos de infecção de longa duração (Tronstad et al.¹⁶⁴, 1987; Molven et al.⁹⁹, 1991; Lonçali et al.⁹³, 1996; Leonardo et al.⁸⁵, 2002, Nori et al.¹⁰³, 2002). Torna-se assim, impossível a eliminação da infecção apenas pelo preparo biomecânico. Lima et al.⁹⁰ (2001) e Spratt et al.¹⁴⁹ (2001) realizaram estudo, *in vitro*, avaliando a atividade antimicrobiana de soluções irrigadora endodônticas sobre biofilmes de *E. faecalis*, sendo observados melhores resultados utilizando a solução de

clorexidina.

Após o preparo biomecânico foi observada maior atividade antimicrobiana e maior redução das ufc nos canais preparados com as soluções de clorexidina e NaOCl, com melhor desempenho para a clorexidina ($p < 0,05$). A atividade antimicrobiana destas soluções, *in vitro*, tem se mostrado equivalente (Jeansonne e White⁶⁹, 1994; Yelsilsoy et al.¹⁷⁵, 1995; Gomes et al.⁴⁸, 2001; Ferraz et al.⁴¹, 2001; Spratt et al.¹⁴⁹, 2001; Estrela et al.³⁶, 2003). O resultado favorável da clorexidina pode estar relacionado ao seu efeito antimicrobiano residual ou substantividade, já demonstrada por *in vivo* e *in vitro* (White et al.¹⁷⁰, 1997; Leonardo et al.⁸⁹, 1999; Komorosky et al.⁷³, 2000, Lenet et al.⁷⁷, 2000; Weber et al.¹⁶⁸, 2003).

Com relação aos tipos de microrganismos, no grupo que a solução de clorexidina foi utilizada, observou-se redução nos três meios de cultura empregados. O grupo que utilizou a solução de hipoclorito de sódio possibilitou a redução dos anaeróbios, sendo a redução dos aeróbios e microaerófilos não significativa. Este resultado pode estar relacionado a maior resistência destes microrganismos à solução irrigadora ou maior capacidade de adaptação, proliferação e maior velocidade de invasão destes no sistema de canais radiculares.

Nos canais radiculares em que não foi utilizada solução irrigadora com atividade antimicrobiana (grupo 3 - soro fisiológico), a ação mecânica da instrumentação somada a ação de limpeza da solução não foram suficientes para conseguir redução das ufc, com tendência ao aumento de seu número após o período de trinta dias. Isto demonstra que a ação de redução da microbiota após preparo biomecânico depende da capacidade antimicrobiana

da solução irrigadora empregada. Também, aumento do número de microrganismos foi observado no grupo controle, no qual não foi realizado o preparo biomecânico.

Mesmo com redução das UFC, após o preparo biomecânico nos grupos 1 e 2, nos quais foram utilizadas soluções irrigadoras com propriedades antimicrobianas não foi obtida a desinfecção ou ausência completa de microrganismos nos canais radiculares avaliados após o preparo biomecânico. Fica clara a necessidade de meios adicionais para a complementação da desinfecção adequada do sistema de canais radiculares. Assim, para atuação complementar ao preparo biomecânico recomenda-se a utilização de um curativo de demora (Sjögren et al.¹⁴⁴, 1997; Shuping et al.¹³⁰, 2000; Tanomaru Filho et al.¹⁶⁰, 2002, Oztan et al.¹⁰⁰, 2002).

6.5. Avaliação histopatológica.

Os canais radiculares não receberam nenhum material ou curativo de demora após o preparo biomecânico para evitar a introdução de fatores que poderiam influenciar nas condições dos tecidos apicais e periapicais, uma vez que o objetivo do estudo foi avaliar o efeito do preparo biomecânico sobre as reparações dos mesmos. Assim, a avaliação histopatológica dos tecidos apicais e periapicais estavam correlacionadas às

condições proporcionadas pelo preparo biomecânico utilizando as diferentes soluções irrigadoras.

O período de 30 dias foi necessário para possibilitar a avaliação do efeito do preparo biomecânico com as diferentes soluções irrigadoras na desinfecção do sistema de canais radiculares e seu efeito biológico sobre os tecidos apicais e periapicais. Nelson Filho¹⁰¹ (2000), em estudo realizado em dentes de cães para avaliar a inativação do LPS pelo hidróxido de cálcio, utilizou no grupo controle canais radiculares preenchidos com solução salina durante o período de 30 dias, não sendo observada alterações inflamatórias da região periapical. Desta forma, em nosso estudo, as condições dos tecidos periapicais foram influenciadas pela ação do preparo biomecânico.

A descalcificação das peças histológicas foi efetuada em solução de EDTA e exposição a microondas de acordo com a descrição de Soares¹²⁸ (1999). Esta técnica permite obtenção dos resultados em menor período de tempo e melhor preservação das estruturas morfológicas celulares, favorecendo a análise histopatológica, sendo utilizado em outros estudos (Bonetti Filho¹⁹, 2000; Nelson Filho¹⁰¹, 2000; Mattos⁹⁶, 2001; Tanomaru Filho¹⁵⁹, 2001; Tanomaru¹⁵⁶, 2002).

Os resultados histopatológicos obtidos demonstraram que o preparo biomecânico foi ineficaz na desinfecção do sistema de canais radiculares. A ação mecânica da instrumentação, somada às propriedades das soluções irrigadoras, incluindo antimicrobianas (Grupos 1 e 2) não foi suficiente para promover condições de reparação dos tecidos apicais e periapicais.

Desta forma, todos os grupos experimentais revelaram na região apical e periapical severo e extenso infiltrado de células inflamatórias, severo aumento do ligamento periodontal e intensa reabsorção apical e óssea. De um modo geral, não foi observada diferença significativa entre os grupos, incluindo o grupo controle ($p > 0,05$).

A análise global dos fenômenos histopatológicos avaliados demonstrou não haver diferença entre os grupos experimentais, inclusive no grupo controle, sem preparo biomecânico ($p > 0,05$). Apesar de haver diminuição no número de microrganismos nos grupos que utilizaram soluções antimicrobianas (Grupos 1 e 2), os resultados histopatológicos demonstram que a mesma não foi suficiente para criar condições de reparação dos tecidos apicais e periapicais.

Estes resultados confirmam que no desenvolvimento e manutenção das lesões periapicais os microrganismos são de importância fundamental (Byström et al.²⁶, 1987; Sjögren et al.^{143, 144}, 1991, 1997; Sundqvist et al.¹⁵³, 1998).

Outro fator importante na patogenia das lesões periapicais deve ser ressaltado, uma vez que a microbiota endodôntica predominante em dentes com lesão periapical é composta por microrganismos anaeróbios gram-negativos, e conseqüente com grande concentração de endotoxinas bacterianas (Schein e Schilder¹²³, 1975; Pitts et al.¹¹⁵, 1982; Schonfeld et al.¹²⁴, 1982; Horiba et al.⁶⁶, 1992). A endotoxina ou lipopolissacarídeo (LPS) faz parte da parede celular das bactérias gram-negativas e é liberada durante a multiplicação ou morte da bactéria. Sua presença na região periapical resulta na liberação de mediadores químicos responsáveis por intensa

resposta inflamatória, ativação do sistema complemento e estímulo à reabsorção óssea e cementária (Horiba et al.⁶⁶, 1992). A endotoxina possui ainda a capacidade de aderência irreversível aos tecidos mineralizados (Silva et al.¹³⁴, 2002).

Durante o preparo biomecânico dos canais radiculares, a ação química das soluções irrigadoras pode promover a morte de bactérias gram-negativas, com conseqüente rompimento da parede e liberação de uma grande quantidade de LPS no sistema de canais radiculares, região apical e periapical. A endotoxina difundida e aderida à dentina, cimento e osso mantêm seu efeito virulento sobre os tecidos periapicais. Não sendo o mesmo inativado pela ação das soluções irrigadoras, conforme demonstrado por estudos “in vitro” (Aibel e Stevens², 1999, Buck et al.²³, 2001) ou avaliação em dentes de cães preenchidos com endotoxina (Tanomaru et al.¹⁵⁷, 2003). Desta forma, a manutenção da resposta inflamatória dos tecidos periapicais e reabsorção dos tecidos mineralizados poderiam ser mantidos pelo efeito da endotoxina. Alguns estudos têm demonstrado que a reação periapical crônica pode ser induzida e mantida apenas pela presença de endotoxina nos canais radiculares (Nelson Filho¹⁰¹, 2000, Tanomaru et al.¹⁵⁷, 2003).

De acordo com estes resultados torna-se necessária a complementação da desinfecção proporcionada pela ação do preparo biomecânico com para promoção das condições necessárias para reparação dos tecidos apicais e periapicais.

6.4. Considerações finais

Durante o tratamento endodôntico de dentes sem vitalidade

pulpar e com lesão periapical, a atuação do preparo biomecânico mostrou-se insatisfatória quanto à desinfecção do sistema de canais radiculares. Assim, a utilização de soluções irrigadoras com comprovada atividade antimicrobiana, ou mesmo efeito residual, foi insuficiente para eliminação dos microrganismos dos canais radiculares, mantendo a reação periapical crônica dos tecidos periapicais.

Nossos resultados reforçam a necessidade do curativo de demora para atuação complementar ao preparo biomecânico nos dentes com lesão periapical. Tanomaru Filho et al.¹⁶⁰ (2002) obtiveram melhores resultados de reparação dos tecidos apicais e periapicais em dentes de cães com lesão periapical quando foi utilizado curativo de demora com pasta à base de hidróxido de cálcio, previamente à obturação com cimento endodôntico Sealapex. Os casos em que os canais radiculares foram obturados em única sessão, mesmo quando o preparo biomecânico foi realizado empregando solução de hipoclorito de sódio a 5,25% ou de clorexidina a 2%, mostraram resultados insatisfatórios de reparação dos tecidos apicais e periapicais, com manutenção de reação inflamatória severa na maior parte dos espécimes. A atuação antimicrobiana complementar das pastas à base de hidróxido de cálcio tem sido considerada fundamental para promoção de condições de reparação dos tecidos apicais e periapicais em dentes com lesão periapical (Silveira¹³⁵, 1997, Soares¹⁴⁶, 1999; Otoboni Filho¹⁰⁸, 2000).

Ainda devemos considerar que as soluções irrigadoras endodônticas não apresentam ação efetiva na inativação dos efeitos virulentos da endotoxina liberada após a morte de bactérias Gram-negativas,

a qual pode estimular a reação inflamatória periapical e reabsorção dos tecidos mineralizados. Visando a inativação dos efeitos virulentos da endotoxina bacteriana, as pastas à base de hidróxido de cálcio são indicadas, por associar boas propriedades antimicrobianas, biológicas e capacidade de inativação efetiva da endotoxina bacteriana (Nelson Filho¹⁰¹, 2000, Silva et al.¹³⁴, 2002; Tanomaru et al.¹⁵⁷, 2003).

As condutas clínicas endodônticas devem estar baseadas em evidências científicas, respeitando os princípios técnicos e biológicos. Desta forma, considerando-se que o tratamento endodôntico é composto de diversas fases interdependentes, o conhecimento sobre a atuação e limitações de cada uma delas tem grande importância para compreensão e formação de bases científicas que permitam a obtenção do sucesso.

CONCLUSÃO

7. Conclusão

Considerando a metodologia utilizada e os resultados obtidos, pôde-se concluir que:

7.1. Da análise da microbiota

- O emprego de soluções irrigadoras com atividade antimicrobiana (hipoclorito de sódio a 2,5% ou digluconato de clorexidina a 2%) durante o preparo biomecânico dos canais radiculares possibilitou redução significativa da microbiota endodôntica ($p < 0,05$), sem eliminação da mesma.
- A solução de clorexidina a 2% proporcionou maior diminuição de microrganismos após preparo biomecânico, quando comparado às soluções de hipoclorito de sódio a 2,5% ou soro fisiológico ($p < 0,05$).

7.2. Da análise histopatológica

- O preparo biomecânico com as diferentes soluções irrigadoras não foi capaz de promover condições de reparação dos tecidos apicais e periapicais, uma vez que os grupos experimentais foram semelhantes ao grupo controle (sem preparo biomecânico), com $p > 0,05$.

REFERÊNCIAS

8. Referências*

1. ABOU-RASS, M.; BOGEN, G. Microorganisms in closed periapical lesions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 31, n. 1, p. 39-47, Jan. 1998.
2. AIBEL, K.; STEVENS, R. Effect of chlorhexidine on IL-6 induction by LPS. **J. Endod.**, Baltimore, v. 28, n. 4, p. 282, Apr. 1999. (Abstract OR 1).
3. ALENCAR, A.H.G. **Avaliação da presença do p-monoclorofenol e do efeito antimicrobiano residual da associação hidróxido de cálcio (Calen) + P-monoclorofenol utilizada como medicação intracanal em dentes de cães despulpados e reação periapical crônica induzida.** 1995. 105f. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1995.
4. ALLARD, U.; STRÖNGBERG, U.; STRÖNGBERG, T. Endodontic treatment of experimentally induced apical periodontitis in dogs. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 3, n. 5, p. 240-244, Oct. 1987.
5. ALMYROUDI, A.; MACKENZIE, D.; McHUGH, S.; SAUNDERS, W.P. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an in vitro study. **J. Endod.**, Baltimore, v. 28, n. 3, p. 163-167, Mar. 2002.
6. ANDO, N.; HOSHINO, E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentine. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 23, n. 1, p. 20-27, Jan. 1990.
7. ARMITAGE, G.C.; RYDER, M.I.; WILCOX, S.E. Cemental changes in the teeth with heavily infected root canals. **J. Endod.**, Baltimore, v. 9, n. 4, p. 127-130, Apr. 1983.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação – referências – elaborações. Rio de Janeiro: ABNT, 2002. 24p.

8. AYHAN, H.; SULTAN, N.; ÇIRAK, M.; RUHI, M.Z.; BODUR, H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 32, n. 2, p. 99-102, Mar. 1999.
9. AZEVEDO, D.L.; LEONARDO, M.R. Preparo biomecânico de canais radiculares complementado pela irrigação e aspiração com líquido de Dakin (avaliação bacteriológica). **Rev. Paul. Endod.**, São Paulo, v. 4, p. 99-106, 1983.
10. BARKER, B.C.W.; LOCKETT, B.C. Endodontic experiments with restorable paste. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v.16, n. 6, p. 364-372, Dec. 1971.
11. BASSON, N.J.; TAIT, C.M. Effectiveness of three root canal medicaments to eliminate *Actinomyces israelii* from infected dentinal tubules in vitro. **S. A. D. J.**, Houghton, v. 56, n. 11, p. 499-501, Nov. 2001.
12. BAUMGARTNER, J.C.; CUENIN, P.R. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. **J. Endod.**, Baltimore, v. 18, n. 12, p. 605-612, Dec. 1992.
13. BECKING, A.G. Complications in use of sodium hypochlorite during endodontic treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 71, n. 3, p. 346-348, Mar. 1991.
14. BERBERT, A. **Comportamento dos tecidos apicais e periapicais após biopulpectomia e obturação do canal com AH 26, hidróxido de cálcio ou a mistura de ambos – estudo biológico em dentes de cães.** 1978. 152f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo. Bauru, 1978.
15. BERBERT, F.L.C.V. **Avaliação histológica da reparação apical e periapical pós-tratamento endodôntico de dentes de cães com reação periapical crônica induzida, em função do curativo de demora com calen/PMCC ou Calasept ou AH plus.** 1999, 306f. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, Bauru, 1999.

16. BERBERT, A.; BRAMANTE, C.M.; BERNARDINELLI, N. **Endodontia prática**. São Paulo: Sarvier, 1980.
17. BERUTTI, E.; MARINI, R.; ANGERETTI, A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. **J. Endod.**, Baltimore, v. 23, n. 12, p. 725-727, Dec. 1997.
18. BONETTI FILHO, I. **Avaliação da biocompatibilidade de quatro técnicas de obturação de canais radiculares. Estudo em dentes de cães**. 1990. 110f. Tese (Doutorado em Dentística Restauradora) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1990.
19. BONETTI FILHO, I. **Tratamento de canais radiculares de dentes de cães com necrose pulpar e lesão periapical crônica induzida, realizado em sessão única e duas sessões, utilizando três diferentes curativos de demora. Avaliação radiográfica, histopatológica e histomicrobiológica**. 2000. 336f.. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.
20. BRISEÑO, B. M.; WIRTH, R.; HAMM, G.; STANDHARTINGER, W. Efficacy of different irrigation methods and concentration of root canal irrigants solutions on bacteria in the root canal. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 8, n. 1, p. 6-11, Feb. 1992.
21. BUCK, R.A.; ELEAZER, P.D.; STAAT, R.H. In vitro disinfection of dentinal tubules by various endodontics irrigants. **J. Endod.**, Baltimore, v. 25, n. 12, p. 786-788, Dec. 1999.
22. BUCK, R.A.; ELEAZER, P.D.; STAAT, R.H.; SCHEETZ, J.P. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. **J. Endod.**, Baltimore, v. 27, n. 3, p. 206-208, Mar. 2001.
23. BUCK, R.A.; CAI, J.; ELEAZER, P.D.; STAAT, R.H.; HURST, H.E. Detoxification of endotoxin by endodontic irrigants and calcium hydroxide. **J. Endod.**, Baltimore, v. 27, n. 5, p. 325-327, May 2001.

24. BYSTRÖM, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the 0,5% sodium hypochlorite in endodontic therapy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 55, n. 3, p. 307-312, Mar. 1983.
25. BYSTRÖM, A.; SUNDQVIST, G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.18, n. 1, p. 35-40, Jan. 1985.
26. BYSTRÖM, A.; HAPPONEN, R.P.; SJOGREN, U.; SUNDQVIST, G. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.3, n. 2, p. 58-63, Apr. 1987.
27. CERVONE, F.; TRONSTAD, L.; HAMMOND, B. Antimicrobial effect of chlorhexidine in a controlled release delivery system. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 6, n. 1, p. 33-36, Feb. 1990.
28. CHANG, Y.C.; HUANG, F.M.; TAI, K.W.; CHOU, M.Y. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 92, n. 4, p. 446-450, Oct. 2001.
29. CHEUNG, G.S.; STOCK, C.J. In vitro cleaning ability of root canal irrigants with and without endosonics. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 26, n. 6, p. 334-343, Nov. 1993.
30. CHONG, B.S.; PITT FORD, T.R. The role of intracanal medication in root canal treatment. **Int. Endod. J.**, v. 25, n. 2, p. 97-106, Mar. 1992.
31. CITROME, G.P.; KAMINSKI, E.J.; HEUER, M.A. A comparative study of tooth apexification in dog. **J. Endod.**, Baltimore, v. 5, n. 10, p. 290-297, Oct. 1979.
32. CYMBLER, D.M.; ARDAKANI, P. Sodium hypochlorite injection into periapical tissues. **Dent. Update**, Londres, v. 21, n. 8, p. 245-246, Oct, 1994.

33. D'ARCANGELO, C.; VARVARA, G.; DE FAZIO, P. An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. **J. Endod.**, Baltimore, v. 25, n. 5, p. 351-353, May. 1999.
34. DELANY, G.M.; PATTERSON, S.S.; MILLER, C.H.; NEWTON, C.W. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 53, n. 5, p. 518-23, May 1982.
35. ESTRELA, C., BAMMANN, L.L., PIMENTA, F.C., PECORA, J.D. Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 34, n. 5, p. 341-345, July 2001.
36. ESTRELA, C.; RIBEIRO, R.G., ESTRELA, C.R.; PECORA, J.D.; SOUSA-NETO, M.D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p. 58-62, 2003.
37. ESTRELA, C.; ESTRELA, C.R.A; SPANÓ, J.C.E.; MARCHESAN, M.A; PECORA, J.D. mechanism of action of sodium hypochlorite **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 13, n. 2, p. 113-117, 2002.
38. FABRICIUS, L.; DAHLÉN, G.; OHMAN, A.E.; MOLLER, A.J.R. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v. 90, n. 2, p.134-144, Apr. 1982.
39. FERGUSON, D.B.; MARLEY, J.T.; HARTWELL, G.R. The effect of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: long-term results. **J Endod.**, Baltimore, v. 29, n. 2, p. 91-94, Feb. 2003.
40. FERGUSON, J.W.; HATTON, J.F.; JANE GILLESPIE, M. Effectiveness of intracanal irrigants and medications against the yeast *Candida albicans*. **J. Endod.**, Baltimore, v. 28, n. 2, p.68-71, Feb, 2002.

41. FERRAZ, C.C., GOMES, B.P.F.A., ZAIA, A.A., TEIXEIRA, F.B., SOUZA-FILHO, F.J. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. **J. Endod.**, Baltimore, v. 27, n. 7, p. 452-455, July 2001.
42. FERREIRA, C.M., ROSA, O.P.S., TORRES, S.A., FERREIRA, F.B.A., BERNARDINELLI, N. Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 2, p. 118-22, 2002.
43. FOLEY, D.B.; WEINE, F.S.; HAGEN, J.C.; OBARRIO, J.J. Effectiveness of selected irrigants in the elimination of *Bacteroides melaninogenicus* from the root canal system: "in vitro". **J. Endod.**, Baltimore, v. 9, n. 6, p.236-241, June 1983.
44. FOUAD, A.F.; WALTON, R.E.; RITTMAN, B.R. Induced periapical lesions in ferret canine: a histologic and radiographic evaluation. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 8, n. 2, p. 56-62, Apr. 1992.
45. FOUAD, A.F.; WALTON, R.E.; RITTMAN, B.R. Healing of induced periapical lesions in ferret canine. **J. Endod.**, Baltimore, v. 19, n. 3, p. 123-129, Mar. 1993.
46. GEORGOPOULOU, M.; KONTAKIOTIS, E.; NAKOU, M. Evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid and sodium hypochlorite on the anaerobic flora of the infected root canal. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.27, n. 3, p.139-143, May 1994.
47. GOMES, B.P.F.A.; LILLEY, J.D.; DRUCKER, D.B. variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 235-241, July 1996.
48. GOMES, B.P.; FERRAZ, C.C.; VIANNA, M.E.; BERBER, V.B.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 34, n. 6, p. 424-428, Sep. 2001.

49. GORDON, T.M.; DAMATO, D.; CHRISTNER, P. Solvent effect of various dilutions of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. **J. Endod.**, Baltimore, v.7, n. 10, p.466-469, Oct. 1981.
50. GRAWHER, M., SENER, B., WALTIMO, T., ZEHNDER, M. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 36, n. 6, p. 411-415, June 2003.
51. GRECCA, F.S. **Avaliação radiográfica de reparação apical e periapical pós tratamento de dente de cães com lesão periapical crônica induzida, utilizando se diferentes curativos de demora à base de hidróxido de cálcio e dois cimentos obturadores de canal radicular.** 1999. 345f. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 1999.
52. GREENSTEIN, G.; BERMAN, C.; JAFFIN, R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 57, n. 6, p. 370-376, June 1986.
53. GROSSMAN, L.I.; MEIMAN, B.W. Solution of pulp tissue by chemical agents. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.28, p.223-225, 1941.
54. HAAPASALO, H.K.; SIREN, E.K.; WALTIMO, T.M.; ORSTAVIK, D.; HAAPASALO, M.P. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 32, n. 2, p. 126 131, Mar. 2000.
55. HAENNI, S.; SCHMILDLIN, P. R.; MUELLER, B.; SENER, B.; ZEHNDER, M. Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 36, n. 2, p. 100-105, Feb. 2003.
56. HAUMANN, C. H. J.; LOVE, R. M. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs substances. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 36, n. 2, p. 75- 85, Feb. 2003.

57. HALES, J.J.; JACKSON, C.R.; EVERETT, A.P.; MOORE, S.H. Treatment protocol for the management of a sodium hypochlorite accident during endodontic therapy. **Gen. Dent.**, v. 49, n. 3, p. 278-281, May-June 2001.
58. HARRISON, J.W.; WAGNER, G.W.; HENRY, C.A. Comparison of the antimicrobial effectiveness of regular and fresh scent Clorox. **J. Endod.**, Baltimore, v. 16, n. 7, p. 328-330, July 1990.
59. HASSELGREN, G., OLSSON, B., CVEK, M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. **J. Endod.**, Baltimore, v.14, n. 3, p.125-127, Mar. 1988.
60. HELING, I.; CHANDLER, N.P. Antimicrobial effects of irrigant combinations within dentinal tubules. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.31, n. 1, p.8-14, Jan. 1998.
61. HELING, I.; SOMMER, M.; STEINBERG, D.; FRIEDMAN, M.; SELA, M.N. Microbiological evaluation of the efficacy of chlorhexidine in a sustained-release device for dentine sterilization. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 25, n. 1, p. 15-19, Apr. 1992.
62. HELING, I.; STEINBERG, D.; KENING, S.; GAVRILOVICH, I.; SELA, M.N. Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and Ca(OH)₂ in preventing secondary infection of dentinal tubules. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 25, n. 1, p. 20-24, Jan. 1992.
63. HOLLAND, R.; SOARES, I.J.; SOARES, I.M. Influence of irrigation and intracanal dressing on the healing process of dogs' teeth with apical periodontitis. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.8, n. 6, p.223-229, Dec. 1992.
64. HOLLAND, R.; VALLE, G.F.; TAINTOR, J.F.; INGLE, J.I. Influence of bone resorption on endodontic treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 55, p. 191-203, 1983.

65. HOLLAND, R.; SOUZA, V.; NERY, M.J.; MELLO, W.; BERNABÉ, P.F.E.; OTOBONI FILHO, J.A. Root canal treatment of pulpless teeth with cavital or zinc oxide-eugenol, in one or two sittings. **Rev. Fac. Odontol. Araçatuba**, Araçatuba, v. 7, n. 2, p. 47-51, 1978.
66. HORIBA, N.; MAEKAWA, Y.; YAMAUCHI, Y.; ITO, M.; MATSUMOTO, T.; NAKAMURA, H. Complement activation by lipopolysaccharides purified from gram-negative bacteria isolated from infected root canals. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 74, n. 5, p. 648-651, Nov. 1992.
67. HULSMANN, M.; HAHN, W. Complications during root canal irrigation – literature review and case reports. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 186-193, Mar. 2000.
68. ISO nº 7405. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION. **Dentistry – Preclinical evaluation of compatibility of medical devices used in dentistry – Test methods for dental material**. Genebra, 1997.
69. JEANSONNE, M.J.; WHITE R.R. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. **J. Endod.**, Baltimore, v. 20, n. 6, p. 276-278, June 1994.
70. JUNG, S.; SAFAVI, K.; SPANGBERG, L. The effectiveness of chlorhexidine in the prevention of root canal reinfection. **J. Endod.**, v. 25, n. 4, p. 288, Apr. 1999. (Abstract OR 26).
71. KATEBZADEH, N.; HUPP, J.; TROPE, M. Histological periapical repair after obturation of infected root canals in dogs. **J. Endod.**, Baltimore, v. 25, n. 5, 364-368, May 1999.
72. KNIGHT, B. A.; PUY, R.; DOUGLASS, J.; O'HEHIR, R. E.; THIEN, f. Chlorhexidine anaphylaxis: a case report and review of literature. **Int. Med. J.**, Carlton, v.31, n. 7, p. 436, Sep./Oct. 2001.
73. KOMOROWSKI, R.; GRAD, H.; WU, X.Y.; FRIEDMAN, S. Antimicrobial substantivity of chlorehexidine –treated bovine root dentin. **J. Endod.**, Baltimore, v. 26, n. 6, p. 315-317, June 2000.

74. KURUVILLA, J.R.; KAMATH, M.P. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. **J. Endod.**, Baltimore, v. 24, n. 7, p. 472-476, July 1998.
75. LAUERMA, A. I. Simultaneous immediate and delayed hypersensitivity to chlorhexidine digluconate. **Contact dermatitis**, Copenhagen, v. 44, n. 1, p. 52, Jan. 2001.
76. LEAL, J.M. Preparo biomecânico dos canais radiculares. Meios mecânicos: instrumentação clássica ou convencional. In: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. **Endodontia**: Tratamento dos canais radiculares. 3ª ed., São Paulo: Ed. Médica Panamericana, 1998. cap 17, p. 367-388.
77. LENET, B.J.; KOMOROWSKI, R.; WU, X.Y.; HUANG, J.; GRAD, H.; LAWRENCE, H.P.; FRIEDMAN, S. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. **J. Endod.**, Baltimore, v. 26, n. 17, p. 652-655, Nov. 2000.
78. LEONARDO, M.R. Preparo biomecânico dos canais radiculares. In: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. **Endodontia**: Tratamento dos canais radiculares. 3ª ed., São Paulo: Ed. Médica Panamericana, 1998. cap. 16, p. 359-366.
79. LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B. Medicação tópica entre-sessões, “curativo de demora” em biopulpectomia e necropulpectomia I e II. In: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. **Endodontia**: Tratamento dos canais radiculares. 3ª ed., São Paulo: Ed. Médica Panamericana, 1998. cap. 24, p. 491-534.
80. LEONARDO, M.R.; ALMEIDA, W.A.; ITO, I.Y.; SILVA, L.A.B. Radiographic and microbiologic evaluation of post treatment apical and periapical repair of root canals of dog's teeth with experimentally induced chronic lesion. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 78, n. 2, p. 232-238, Aug. 1994.

81. LEONARDO, M.R.; ALMEIDA, W.A.; SILVA, L.A.B.; UTRILLA, L.S. Histopathological observations of periapical repair in teeth radiolucent areas submitted to two different methods of root treatment. **J. Endod.**, Baltimore, v. 21, n. 3, p. 137-141, Mar. 1995.
82. LEONARDO, M.R.; LEAL, J.M.; LIA, R.C.C.; MARTINS, J.C.R. Filosofia do tratamento de canais radiculares. Necropulpectomia: Conceituação. In: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. **Endodontia: Tratamento dos canais radiculares**. 3^a ed., São Paulo: Ed. Médica Panamericana, 1998. cap. 7, p. 127-158.
83. LEONARDO, M.R.; LIA, R.C.C.; ESBERARD, R.M.; BENATTI NETO, C. Immediate root canal filling: the use of cytophylatic substances and noncytotoxic solution. **J. Endod.**, Baltimore, v. 10, p. 1-8, 1984.
84. LEONARDO, M.R.; UTRILLA, L.S.; ASSED, S.; SILVA, L.A.B. Avaliação histopatológica dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães após biopulpectomia e utilização de diferentes curativos de demora. **Rev. Bras. Odontol.**, v. 32, n. 1, p. 14-19, 1996.
85. LEONARDO, M.R.; ROSSI, M. A.; SILVA, L.A.B.; ITO, I.Y.; BONIFÁCIO, K.C. SEM evaluation of bacteria biofilm and microorganisms on the apical external root surface of human teeth. **J. Endod.**, Baltimore, v. 28, n. 12, p. 815-818, Dec. 2002.
86. LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B.; LEONARDO, R.T.; UTRILLA, L.S.; ASSED, S. Histopathological evaluation of therapy using a calcium hydroxide dressing for teeth with incompletely formed apices and periapical lesions **J. Endod.**, Baltimore, v. 19, n. 7, p. 348-352, July 1993.
87. LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B.; TANOMARU FILHO, M.; BONIFÁCIO, K.C.; ITO, I.Y. In vitro antimicrobial activity of a castor oil-based irrigant. **J. Endod.**, Baltimore, v. 27, n. 12, p. 717-719, Dec. 2001.
88. LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B.; UTRILLA, L.S.; ASSED, S.; ETHER, S.S. Calcium hydroxide root canal sealers – histopathologic evaluation of apical repair after endodontic treatment. **J. Endod.**, Baltimore, v. 23, n. 7, p. 428-432, July 1997.

89. LEONARDO, M.R.; TANOMARU FILHO, M.; SILVA, L.A.B.; NELSON FILHO, P.; BONIFÁCIO, K.C.; ITO, I.Y. In vitro antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigant solution. **J. Endod.**, Baltimore, v. 25, n. 3, p. 167-171, Mar. 1999.
90. LIMA, K.C.; FAVA, L.R.; SIQUEIRA JR, J.F. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. **J. Endod.**, Baltimore, v. 27, n. 10, p. 616-619, Oct. 2001.
91. LIN, Y.; MICKEL, A K.; CHOGLE, S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.**, Baltimore, v. 29, n. 9, p. 565-566, Sep. 2003.
92. LINDSKOG, S.; PIERCE, A.M.; BLOMLÖF, L. Chlorhexidine as a root canal medicament for treating inflammatory lesions in the periodontal space. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 14, n. 4, p. 186-190, Aug. 1998.
93. LOMÇALI, G.; SEN, B. H.; ÇANKAYA, H. Scanning electron microscopic observation of apical root surface of teeth with apical periodontitis. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 12, n. 2, p. 70-76, Apr. 1996.
94. McCOMB, D.; SMITH, D.C.A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. **J. Endod.**, Baltimore, v. 1, n. 7, p. 238-245, July 1975.
95. MARLEY, J.T.; FERGUSON, D.B.; HARTWELL, G.R. Effects of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: short-term results. **J. Endod.**, Baltimore, v. 27, n. 12, p. 775-778, Dec. 2001.
96. MATTOS, A.F.R. **Avaliação radiográfica e histopatológica do reparo apical e periapical de cães com necrose pulpar e reação experimental induzida. Efeito da neutralização e do curativo de demora.** 2001. 345f. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

97. MEHRA, P.; CLANCY, C.; WU, J. Formation of a facial hematoma during endodontic therapy. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 131, n. 1, p. 67-71, Jan. 2000.
98. MOLANDER, A.; REIT, C.; DAHLÉN, G.; KVIST, T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 31, n. 1, p. 1-7, Jan. 1998.
99. MOLVEN, O.; OLSEN, I.; KEREKES, S. Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of the root canals in permanent teeth with periapical lesions. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 7, n. 5, p. 226-229, Oct. 1991.
100. NAGAOKA, S.; MIYASAKI, Y.; LIU, H-J.; IWAMOTO, Y.; KITANO, M.; KAWAGOE, M. Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and nonvital teeth. **J. Endod.**, Baltimore, v. 21, n. 2, p. 70-73, Feb. 1995.
101. NELSON FILHO, P. **Efeito da endotoxina (LPS), associada ou não ao hidróxido de cálcio, sobre os tecidos apicais e periapicais de dentes de cães.** 2000. 107f. Tese (Doutorado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.
102. NERY, M.J. **Tratamento de dentes com lesões periapicais crônicas: influência das substâncias utilizadas no preparo biomecânico de canais radiculares obturados com o cimento Sealapex.** 2001. 330f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade estadual Paulista, Araçatuba, 2001.
103. NORI, Y.; EHARA, A.; KAWAHARA, T.; TAKEMURA, N.; EBISU, S. Participation of bacterial biofilmes in refractory and chronic periapical periodontitis. **J. Endod.**, Baltimore, v. 28, n. 10, p. 679-683, Oct. 2002.
104. OHARA, P.; TORABINEJAD, M.; KETTERING, J.D. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 9, n. 3, p. 95-100, June 1993.

105. ÖNÇAG, Ö., HOSGÖR, M., HILMIOGLU, S., ZEKIOGLU, O., ERONAT, C., BURHANOGLU, D. Comparison of antibacterial and toxic affect of various root canal irrigants. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.26, n. 6, p. 423-432, June 2003.
106. ORSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 6, n. 4, p. 142-149, Aug. 1990.
107. ORSTAVIK, D.; KERESKES, K.; MOLVEN, O. Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxide dressing on bacterial infection during treatment of apical periodontitis: a pilot study. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.24, n. 1, p. 1-7, Jan. 1991.
108. OTOBONI FILHO, J.A. **Processo de reparo de dentes de cães com lesão periapical após tratamento endodôntico em uma ou duas sessões: influência do tempo do curativo de demora e do tipo de material obturador.** 2000. 336f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade estadual Paulista, Araçatuba, 2000.
109. ÖZTAN, M.D. Endodontic treatment of teeth associated with a large periapical lesion. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 35, n. 1, p. 73-78, Jan. 2002.
110. ÖZTAN, M. D.; AKMAN, A. A.; ZAIMOGLU, L.; BILGIÇ. Corrosion rate of stainless-steel files in different irrigating solutions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 35, n. 1, p. 655-659, Jan. 2002
111. PETERS, L. B.; WESSELINK, P. R.; BUIJS, J. F.; VAN WINKELHOFF. Viable bacteria in root dentinal tubules of teethe with apical periodontitis. **J. Endod.**, Baltimore, v27, n. 2, p.76-81, Feb. 2001.
112. PETERS, O. A.; SCHÖNENBERG, K.; LAIB, A. Effects of four Ni-Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 34, n. 3, p. 221-230, Apr. 2001.

113. PITT FORD, T.R. The effect on the periapical tissues of bacterial contamination of the filled root canal. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 16-22, Jan. 1982.
114. PITT FORD, T.R. The radiographic detection of periapical lesion in dogs. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 57, n. 6, p. 662-667, June 1984.
115. PITTS, D.L.; WILLIAMS, B.L.; MORTON JR., T.H. Investigation of the role of the endotoxin in periapical inflammation. **J. Endod.**, Baltimore, v.8, n. 1, p.10-18, Jan. 1982.
116. POLISELI NETO, A. **Métodos de indução experimental de lesões periapicais. Avaliação microbiológica e radiográfica.** 2002. 198f. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2002.
117. PORTENIER, I., HAAPASALO, H., RYE, A., WALTIMO, T., ORSTAVIK, D., HAAPASALO, M. Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 34, n. 3, p. 184-188, Apr. 2001.
118. PUPO, J.; BIRAL, R.R.; ALMEIDA, O.P. Atividade antimicrobiana de soluções para irrigação de canais radiculares. **R. G. O.**, v. 42, p. 17-9, 1994.
119. RIBEIRO, F.C. **Distribuição das bactérias nas estruturas mineralizadas dos dentes com necrose pulpar e granuloma apical.** 1997. 172f. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, Bauru, 1997.
120. RINGEL, A.M.; PATTERSON, S.S.; NEWTON, C.W.; MILLER, C.H.; MULHERN, J.M. In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. **J. Endod.**, Baltimore, v.8, n. 5, p. 200-204, May 1982.
121. ROWE, A.H.R. Problems of intra-canal testing of endodontic materials. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 13, n. 2, p. 96-103, May 1980.

122. SANTA CECÍLIA, M. **Avaliação de algumas propriedades físico-químicas e biológicas de uma solução clorada experimental, para irrigação de canais radiculares.** 1999. 164f. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1999.
123. SCHEIN, B.; SCHILDER, H. Endotoxin content endodontically involved teeth. **J. Endod.**, Baltimore, v.1, n. 1, p. 19-21, Jan. 1975.
124. SCHONFELD, S.E.; GREENING, A.B.; GLICK, D.H.; FRANK, A.L.; SIMON, J.H.; HERLES, S.M. Endotoxin activity in periapical lesions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.26, n. 1, p.82-87, Jan. 1982.
125. SEGURA, J.J.; JIMENEZ-RUBIO, A.; GUERRERO, J.M.; CALVO, J.R. Comparative effects of two endodontic irrigants, chlorhexidine digluconate and sodium hypochlorite, on macrophage adhesion to plastic surface. **J. Endod.**, Baltimore, v. 25, n. 4, p. 243-246, Apr. 1999.
126. SEN, B.H.; SAFAVI, K.E.; SPANGBERG, L.S.W. Antifungal effects of sodium hipochlorite and chlorhexidine in root canals. **J. Endod.**, Baltimore, v. 25, n. 4, p. 235-238, Apr. 1999.
127. SEN, B. H., WESSELINK, P. R., TÜRKÜN, M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 28, p. 141-148, 1995.
128. SHABANHANG, S.; TORABINEJAD, M.; BOYNE, P.P.; ABEDI, H.; McMILLAN, P. A comparative study of root end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate in dogs. **J. Endod.**, Baltimore, v. 25, n. 1, p. 1-5, Jan. 1999.
129. SHOVELTON, D.S. The presence and distribution of microorganisms within non-vital teeth. **Br. Dent. J.**, Londres, v. 117, p. 101-107, 1964.

130. SHUPING, G.B.; ORSTAVIK, D.; SIGURDSSON, A.; TROPE, M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. **J. Endod.**, Baltimore, v. 26, n. 12, p.751-755, Dec. 2000.
131. SILVA, L.A.B. **Rizogênese incompleta – efeito de diferentes pastas à base de hidróxido de cálcio na complementação radicular e na reparação periapical em dentes de cães – estudo histológico.** 1988. 158f. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1988.
132. SILVA, L.A.B. **Rizogênese incompleta – efeito dos curativos de “demora” e “expectante”, no tratamento de canais radiculares de dentes de cães com reação periapical crônica – avaliação radiográfica e histopatológica.** 1991. 192f. Tese (Doutorado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1991.
133. SILVA, L.A.B. **Cimentos obturadores de canal radicular à base de hidróxido de cálcio – avaliação histopatológica do reparo apical em dentes de cães, da resposta inflamatória em tecido subcutâneo da migração celular em cavidade peritoneal de camundongos. Análise de pH, concentração de cálcio total e condutividade.** 1995. 192f. Tese (Doutorado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1995.
134. SILVA, L.; NELSON-FILHO, P.; LEONARDO, M.R.; ROSSI, M.A.; PANSANI, C.A. Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin in vivo, **J. Endod.**, Baltimore, v. 28, n. 2, p. 94-98, Feb. 2002.
135. SILVEIRA, F.F. **Efeito do tempo de ação do curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, utilizado em canais radiculares de dentes de cães com lesão periapical induzida. Análise histopatológica e microbiológica.** 1997. 218f.. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1997.

136. SIQUEIRA JR, J.F.; BATISTA, M.M.; FRAGA, R.C.; UZEDA, M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. **J. Endod.**, Baltimore, v. 24, n. 6, p. 414-416, June 1998.
137. SIQUEIRA JR, J.F.; LOPES, H.P.; MAGALHÃES, F.A.C.; UZEDA, M. Efeito antibacteriano do hipoclorito de sódio a 1% e a 5,25% sobre bacilos anaeróbios produtores de pigmentos negros. **Rev. Paul. Odontol.**, São Paulo, v. 21, p. 4-6, 1999.
138. SIQUEIRA JR, J.F.; ROCAS, I.N.; FAVIERI, A.; LIMA, K.C. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. **J. Endod.**, Baltimore, v. 26, n. 6, p. 331-334, Mar. 2000.
139. SIQUEIRA JR, J.F.; MACHADO, A.G.; SILVEIRA, R.M.; LOPES, H.P.; UZEDA, M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from root canal, in vitro. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 30, n. 4, p. 279-282, July 1997.
140. SIQUEIRA JR, J.F.; ROCAS, I.N.; LOPES, H. P.; MAGALHÃES, F. A. C.; UZEDA, M. Elimination of *Candida albicans* infection of the radicular dentin by intracanal medicamentations. **J. Endod.**, Baltimore, v. 29, n. 8, p. 501504, Aug. 2003.
141. SIQUEIRA JR, J.F.; RICAS, I.N.; SANTOS, S.R.; LIMA, K.C.; MAGALHÃES, M.A.; UZEDA, M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. **J. Endod.**, Baltimore, v. 28, n. 3, p. 181-184, Mar. 2002.
142. SJÖGREN, U.; SUDQVIST, G. Bacteriological evaluation of ultrasonic root canal instrumentation. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 63, n. 3, p. 366-370, Mar. 1987.

143. SJÖGREN, U.; FIGDOR, D.; SPANGBERG, L.; SUNDQVIST, G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 119-125, May 1991.
144. SJÖGREN, U.; FIGDOR, D.; PERSSON, S.; SUNDQVIST, G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 30, n. 5, p. 297-306, Sep. 1997.
145. SÓ, M.V.; CEMIN, A.; PEREIRA, E.P.; IRALA, L.E.D. Tissue dissolution ability of sodium hypochlorite from different manufacturers. **Braz. Endod. J.**, Goiania, v.2, p.33-35, 1997.
146. SOARES, J.A. **Estudo microbiológico dos canais radiculares, histológico e histobacteriológico dos tecidos apicais e periapicais, em função do preparo biomecânico e de dois curativos de demora à base de hidróxido de cálcio, utilizados em dois períodos de avaliação, no tratamento endodôntico de dentes de cães com reação periapical crônica induzida.** 1999, 455f. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1999.
147. SONAT, B.; DALAT, D.; CÛNHAN, O. Apical tissue reactin to root canal fillings with Sealapex. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 22, n. 1, p. 47-53, Jan. 1990.
148. SPANGBERG, L.; ENGESTROM, B.; LANGELAND, K. Biologic effects of dental material. III. Toxicity and antimicrobial effects of endodontic antiseptics in vitro. **Oral Surg.**, St. Louis, v. 36, n. 6, p. 856-871, Dec. 1973.
149. SPRATT, D. A.; PRATTEN, J.; WILSON, M.; GULABIVALA, K. An in vitro evaluation of antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 34, n. 4, p. 300-307, June 2001.

150. SUKAWAT, C.; SRISUWAN, T. A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.**, Baltimore, v. 28, n. 2, p. 102-104, Feb. 2002.
151. SUNDQVIST, G. Ecology of the root canal flora. **J. Endod.**, Baltimore, v. 18, n. 9, p.427-430, Sep. 1992.
152. SUNDQVIST, G.; JOHANSSON, E.; SJÖGREN, U. Prevalence of black-pigmented Bacteroides species in root canal infections. **J. Endod.**, Baltimore, v. 15, n. 1, p.13-19, Jan. 1989.
153. SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D.; PERSSON, S.; SJÖGREN, U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome conservative treatment. **Oral Surg.**, St. Louis, v. 85, n. 1, p. 86-93, Jan. 1998.
154. SYDNEY, G.B.; ESTRELA, C. Influence of root canal preparation on anaerobic bacteria in teeth with asymptomatic apical periodontitis. **Braz. Endod. J.**, Goiânia, v. 1, n. 1, p. 7-14, 1996.
155. TANI-ISHII, N.; KUCHIBA, K.; OSADA, T.; WATANABE, Y.; UMEMOTO, T. Changes in root canal microbiota during the development of rat periapical lesion. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 9, n. 3, p. 129-135, June 1994.
156. TANOMARU, J.M.G. **Efeito de soluções irrigadoras e do hidróxido de cálcio como curativo de demora sobre o LPS-endotoxina. Estudo histopatológico em dentes de cães.** 2002. 159f. Dissertação (Mestrado em Endodontia), Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2002.
157. TANOMARU, J. M. G.; LEONARDO, M. R.; TANOMARU FILHO, M.; BONETTI FILHO, I.; SILVA, L. A. B. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 36, n. 11, p. 733-739, Nov. 2003.

158. TANOMARU FILHO, M. **Comportamento dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães portadores de reação periapical crônica em função da técnica de neutralização do conteúdo séptico tóxico e do cimento obturador empregado no tratamento endodôntico. Avaliação radiográfica e histológica.** 1996. 296f. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1996.
159. TANOMARU FILHO, M. **Reparo apical e periapical após tratamento endodôntico em dentes com reação periapical crônica em função da solução irrigadora e do curativo de demora – estudo em cães. Resposta inflamatória após injeção de diferentes soluções irrigadora – estudo em camundongos.** 2001. 329f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.
160. TANOMARU FILHO, M.; LEONARDO, M.R.; DA SILVA, L.A. 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.**, Baltimore, v. 28, n. 4, p. 295-299, Apr. 2002.
161. TANOMARU FILHO, M.; LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B.; UTRILLA, L.S. Effects of different root canal sealers on periapical repair of teeth with chronic periradicular periodontitis. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 85-89, Mar. 1998.
162. TANOMARU FILHO, M.; LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B.; ANIBAL, F.F; FACCIOLI, L.H. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 35, n. 9, p. 735-739, Sep. 2002.
163. TCHAOU, W. S.; TURNG, B.; MINAH, G. E.; COLL, J. A. Inhibition of pure culture of oral bacteria by root canal filling materials. **Pediatr. Dent.**, v. 18, n 7 , p. 444-449, Nov-Dec. 1996.
164. TRONSTAD, L.; BARNETT, F.; RISO, K.; SLOTS, J. Extraradicular endodontic infection. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 3, n. 2, p. 86-90, Apr. 1987.

165. VAHDATY, A.; PITT FORD, T.R.; WILSON, R.F. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 9, n. 6, p. 243-248, Dec. 1993.
166. WALTON, R.E.; ARDJAMANDI, K. Histological evaluation of the presence of bacteria in induced periapical lesions in monkeys. **J. Endod.**, Baltimore, v. 18, n. 5, p. 216-221, May 1992.
167. WALTON, R.E.; RIVERA, E.M. Cleaning and shaping. In: WALTON, R.E., TORABINEJAD, M. **Principles and practice of endodontics**. 2^a ed., Philadelphia: Saunders, 1996. cap. 13, p. 201-233.
168. WEBER, C. D.; MCCLANAHAN, S. B.; MILLER, G. A; DIENER-WEST, M.; JOHNSON, J. D. The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5,25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. **J. Endod.**, Baltimore, v. 29, n. 9, p. 562-564, Sep. 2003.
169. WEST, J.D.; ROANE, J.B.. Limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares. In: COHEN, S., BURNS, R.C. **Caminhos da polpa**. 7^a ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap. 8, p. 191-242.
170. WHITE, R.R.; HAYS, G.L.; JANER, L.R. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. **J. Endod.**, Baltimore, v. 23, n. 4, p. 229-231, Apr. 1997.
171. WHITE, R.R., JANER, L.R., HAYS, G.L. Residual antimicrobial activity associated with a chlorhexidine endodontic irrigant used with sodium hypochlorite. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v. 12, n. 3, p. 148-150, June 1999.
172. WU, M. K.; VAN DER SLUIS, L. W. M.; WESSELINK, P. R. The capability of two hand instrumentation techniques to remove the inner layer of dentine in oval canals. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 36, n. 3, p. 218-224, Mar. 2003.

173. YAMASHITA, J.C.; TANOMARU FILHO, M.; LEONARDO, M. R.; ROSSI, M. A.; SILVA, L. A. B. Scanning electron microscopic study of the cleaning ability of chlorhexidine as a root-canal irrigant. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 36, n. 6, p. 391-394, June 2003.
174. YANG, S.F.; RIVERA, E.M.; BAUNGARDER, K.R.; WALTON, R.E. anaerobic tissue-dissolving abilities of calcium hydroxide and sodium hypochlorite. **J. Endod.**, Baltimore, v. 21, n. 12, p. 613-616, Dec. 1995.
175. YESILSOY, C.; WHINTAKER, E.; CLEVELAND, D.; PHILLIPS, E.; TROPE, M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. **J. Endod.**, Baltimore, v. 21, n. 10, p. 513-515, Oct. 1995.
176. ZEHNDER, M.; KOSICKI, D.; LUDER, H.; SENER. B.; WALTIMO, T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 94, n. 6, p. 756-762, Dec. 2002.

RESUMO

YAMASHITA, J. C. Avaliação da microbiota e da reparação apical e periapical após preparo biomecânico de canais radiculares com diferentes soluções irrigadoras, em dentes de cães com reação periapical crônica. Araraquara, 2004. 197 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a microbiota presente no sistema canais radiculares antes e após o preparo biomecânico; e as condições histopatológicas da reparação apical e periapical após preparo biomecânico dos canais radiculares de dentes com reação periapical crônica. Foram utilizados 78 canais radiculares de dentes de cães, os quais, após indução de lesão periapical, foram submetidos ao preparo biomecânico utilizando as seguintes soluções irrigadoras: solução de digluconato de clorexidina a 2%, de hipoclorito de sódio a 2,5% ou soro fisiológico. Um grupo controle não recebeu preparo biomecânico. Foram realizadas culturas microbiológicas antes e após 30 dias do preparo biomecânico. Após este período os animais foram mortos para processamento e análise histopatológica. O estudo

microbiológico demonstrou que houve redução dos microrganismos nos grupos que utilizaram soluções antimicrobianas ($p < 0,05$), com melhor resultado para a solução de clorexidina. Os grupos que utilizaram solução fisiológica controle apresentaram aumento de microrganismos. No estudo histopatológico, foi observado, de um modo geral, infiltrado inflamatório periapical severo e em grande extensão, severo espessamento do ligamento periodontal e grandes áreas de reabsorção óssea e apical em todos os grupos ($p > 0,05$). Concluiu-se que o emprego de soluções irrigadoras antimicrobianas durante o preparo biomecânico promove redução da microbiota endodôntica, sem a sua eliminação do sistema de canais radiculares em dentes de cães com lesão periapical. A solução de clorexidina a 2% proporcionou maior redução da microbiota que a solução de hipoclorito de sódio a 2,5% ($p < 0,05$). Porém, os resultados histopatológicos demonstram que somente o preparo biomecânico não foi capaz de criar condições para reparação dos tecidos apicais e periapicais.

Palavras-chave: Clorexidina; irrigantes do canal radicular; preparo de canal radicular.

ABSTRACT

YAMASHITA, J. C. Microbiologic and apical and periapical repair evaluation after biomechanical preparation of dog's teeth with chronic periradicular lesion using different endodontic irrigating solutions. Araraquara, 2004. 197 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Abstract

The aim of this study was to evaluate the microorganisms in the root canal system before and after biomechanical preparation and the apical and periapical repair after this biomechanical preparation. The study was performed in 78 root canals of dog's teeth with induced chronic periradicular lesion. There were used the following endodontic irrigating solutions: 2% chlorhexidine digluconate solution; 2.5% sodium hypochlorite solution, saline solution and a control group without biomechanical preparation. The microbiological sampling were performed before and 30 days after the biomechanical preparation. After this period the animals were killed to histological analysis. In the microbiologic study, the results showed that the antimicrobial solutions used reduced the number of microorganisms ($p < 0.05$). The chlorhexidine

solution showed better performance. The group that used saline solution and the control group presented an increased number of microorganisms. The histological results showed a severe periapical inflammation, severe thickness of periodontal ligament, apical and osseous resorption in all groups ($p>0.05$). It was concluded that the antimicrobial endodontic solution reduced but not eliminated the microorganisms present in root canals of dog's teeth with necrosis and periapical lesion. The chlorhexidine solution was more effective in reducing the number of microorganisms than sodium hypochlorite solution ($p<0.05$). Although, the histopathological results showed that the biomechanical preparation alone was not capable to promote an adequate condition for the apical and periapical tissues repair.

Keywords: Chlorhexidine; root canal irrigants; root canal preparation.

ANEXO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE ARARAQUARA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Rua Humaitá, 1680 - CEP 14801-903 - Caixa Postal 331 Fax (0xx16) 222-4823 - Araraquara - SP
Fone: (0xx16) 201-6431 - e-mail: diretor@foar.unesp.br / home page: <http://www.foar.unesp.br>
Comitê de Ética na Experimentação Animal - CEEA

ZADu

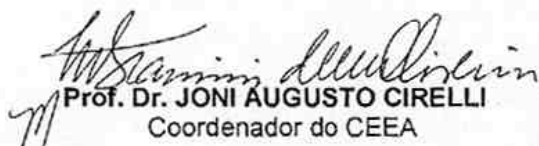
Araraquara, 10 de setembro de 2002

Ofício CEEA-FO/Ar. nº 38/2002

Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Experimentação Animal-CEEA da Faculdade de Odontologia de Araraquara, reunido em 05/09/2002, após a avaliação final do Projeto de sua responsabilidade intitulado "*Avaliação microbiológica e do reparo apical e periapical após preparo biomecânico dos canais radiculares de dentes de cães com reação periapical crônica com diferentes soluções irrigadoras*", considerou-o **APROVADO**, devendo o **relatório final** ser apresentado em **dezembro/2003**.

Atenciosamente.


Prof. Dr. JONI AUGUSTO CIRELLI
Coordenador do CEEA

Ao
Prof. Dr. MÁRIO TANOMARU FILHO
DD. Pesquisador Responsável
Nesta