

CRISTIANE PIRES AVELLAR

**CONTROLE DE *E. faecalis* EM FUNÇÃO DA SUBSTÂNCIA
IRRIGADORA UTILIZADA DURANTEO PREPARO QUÍMICO-
MECÂNICO DE CANAIS RADICULARES**

**Brasília – DF
2006**

CRISTIANE PIRES AVELLAR

**CONTROLE DE *E. faecalis* EM FUNÇÃO DA SUBSTÂNCIA
IRRIGADORA UTILIZADA DURANTE O PREPARO QUÍMICO
MECÂNICO DE CANAIS RADICULARES**

Dissertação apresentada no programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como complementação dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: **Prof. Dr. Edson Dias Costa Junior**

**Brasília - DF
2006**

CRISTIANE PIRES AVELLAR

**CONTROLE DE *E. faecalis* EM FUNÇÃO DA SUBSTÂNCIA
IRRIGADORA UTILIZADA DURANTE O PREPARO QUÍMICO
MECÂNICO DE CANAIS RADICULARES**

Dissertação apresentada no programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como complementação dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Data de Aprovação: 28/07/06

Banca Examinadora:

Professor Doutor Edson Costa Dias Junior (Orientador – UnB)

Professor Doutor Carlos Estrela (UFG)

Professor Doutor Laudimar Alves de Oliveira (UNIP)

Dedico este trabalho:

A Deus, por me mostrar o caminho em todos os momentos.

Aos meus pais Evilázio Tavares de Avellar e Maria das Graças Pires Avellar, pelo amor, confiança e indispensável estímulo à minha carreira profissional.

À minha irmã Alessandra, por todo apoio e ajuda imprescindíveis nesse período.

Ao meu noivo Márcio cuja paciência, colaboração e incentivo foram decisivos para a concretização deste trabalho

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador **Prof. Dr. Edson Dias Costa Junior** que durante a tarefa de confeccionar esse trabalho me ensinou os primeiros passos para pesquisa, mostrou o caminho da verdade e me acolheu com seriedade e paciência. Agradeço pelo seu exemplo de fiel orientador e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Roberto Machado Cruz** pela atenção, interesse e pela oportunidade do convívio durante o curso de Pós-graduação.

Ao **Prof. Dr. Laudimar Alves de Oliveira** pela colaboração, incentivo e pelo profissional de grande valor e dedicação.

À Amiga **Débora Carneiro** pelo companheirismo e incentivo durante todo o curso.

À amiga do curso de Pós-graduação **Maria de Lourdes Vieira Frujeri**, não só por toda consideração, amizade e companheirismo, mas pela profissional de grande valor e carisma que tanto estimo.

Ao Técnico do Laboratório de Biocompatibilidade de materiais da UnB, **Edivaldo Batista Teles** e sua esposa **Conceição Aparecida dos Santos Teles**, pela grande ajuda e colaboração, fundamentais para realização desse trabalho.

À equipe do Laboratório de Microbiologia da Universidade de Brasília, especialmente à **Prof. Dra. Loreny Gimenes Guigliano** e ao **Prof. Alex Leite Pereira**, pela grande colaboração e atenção dispensadas.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para elaboração desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	vii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	4
2.2 SOLUÇÃO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	9
2.3 DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA.....	15
2.4 SOLUÇÃO DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO.....	18
2.5 INSTRUMENTAÇÃO MECANIZADA.....	21
2.6 RELAÇÃO ENTRE MICRORGANISMOS E INFECÇÕES DE ORIGEM ENDODÔNTICA.....	25
3 OBJETIVO	32
4 MATERIAL E MÉTODO	33
4.1 SELEÇÃO DAS SOLUÇÕES AUXILIARES NO PREPARO QUÍMICO- MECÂNICO DOS CANAIS RADICULARES.....	33
4.2 SELEÇÃO E PREPARO MECÂNICO DOS DENTES.....	34
4.3 PREPARO DO MEIO DE CULTURA BRAIN HEART INFUSION.....	35
4.4 PREPARO DA SUSPENSÃO MICROBIANA.....	36
4.5 CONTAMINAÇÃO DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES.....	37
4.6 MÉTODO DE DESINFECÇÃO EMPREGADO.....	38
4.7 DETERMINAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA.....	40
4.8 CONVERSÃO DA ESCALA DE McFARLAND EM PADRÃO DE ABSORVÂNCIA.....	41
5 RESULTADOS	42
6 DISCUSSÃO	51
7 CONCLUSÕES	77
REFERÊNCIAS	78
ANEXOS	88

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 -	GRAU DE TURVAÇÃO DO MEIO DE CULTURA CONTENDO RASPAS DE DENTINA DE INCISIVOS HUMANOS CONTAMINADOS POR <i>E. faecalis</i> - AMOSTRAS DO TEMPO ZERO.....	92
FIGURA 2 -	GRAU DE TURVAÇÃO DO MEIO DE CULTURA CONTENDO RASPAS DE DENTINA DE INCISIVOS HUMANOS CONTAMINADOS POR <i>E. faecalis</i> - AMOSTRAS DO TEMPO DE 48 HORAS.....	92
FIGURA 3 -	GRAU DE TURVAÇÃO DO MEIO DE CULTURA CONTENDO RASPAS DE DENTINA DE INCISIVOS HUMANOS CONTAMINADOS POR <i>E. faecalis</i> - AMOSTRAS DO TEMPO DE 72 HORAS.....	93
FIGURA 4 -	GRAU DE TURVAÇÃO DO MEIO DE CULTURA CONTENDO RASPAS DE DENTINA DE INCISIVOS HUMANOS CONTAMINADOS POR <i>E. faecalis</i> - AMOSTRAS DO TEMPO DE 7 DIAS.....	93
FIGURA 5 -	SELAMENTO APICAL DA RAIZ DO INCISIVO COM RESINA EPÓXI ARALDITE® (HOOPY - BRASCOLA LTDA. - BRASIL).....	94
FIGURA 6 -	ESCALA NEFELOMÉTRICA DE McFARLAND.....	94
GRÁFICO 1 -	EVOLUÇÃO DA MÉDIA DE DENSIDADE ÓPTICA NOS INTERVALOS DE TEMPO ANALISADOS.....	50
TABELA 1 -	SUBSTÂNCIAS AUXILIARES DURANTE O PREPARO QUÍMICO-MECÂNICO DOS CANAIS RADICULARES.....	34
TABELA 2 -	SEQÜÊNCIA DA TÉCNICA DE PREPARO DO CANAL RADICULAR COM SISTEMA ROTATÓRIO K3-ENDO®.....	40
TABELA 3 -	VALORES DE CORRESPONDÊNCIA DA ESCALA NEFELOMÉTRICA DE McFARLAND EM RELAÇÃO AO NÚMERO E À COMPOSIÇÃO DO TUBO E SUA CORRESPONDÊNCIA EM NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA POR ml DE MEIO DE CULTURA.....	89
TABELA 4 -	PADRÃO DE ABSORVÂNCIA EM DENSIDADE ÓPTICA (DO) - CULTURAS REPRESENTATIVAS DE ACORDO COM A ESCALA NEFELOMÉTRICA DE McFARLAND.....	90
TABELA 5 -	MÉDIAS DE DENSIDADE ÓPTICA (DO) DO MEIO DE CULTURA BHI CONTENDO RASPAS DE DENTINA DE INCISIVOS HUMANOS CONTAMINADOS POR <i>E. FAECALIS</i> E SUBMETIDOS À INSTRUMENTAÇÃO MECANIZADA AUXILIADA PELAS SUBSTÂNCIAS IRRIGADORAS TESTADAS - ANÁLISE TEMPO ZERO.....	44
TABELA 6 -	DIFERENÇA MÍNIMA SIGNIFICANTE ENTRE AS MÉDIAS DE DO DAS SUBSTÂNCIAS IRRIGADORAS TESTADAS - TEMPO	

	ZERO.....	44
TABELA 7 -	MÉDIAS DE DENSIDADE ÓPTICA (DO) DO MEIO DE CULTURA BHI CONTENDO RASPAS DE DENTINA DE INCISIVOS HUMANOS CONTAMINADOS POR <i>E. FAECALIS</i> E SUBMETIDOS À INSTRUMENTAÇÃO MECANIZADA AUXILIADA PELAS SUBSTÂNCIAS IRRIGADORAS TESTADAS – ANÁLISE TEMPO DE 48 HORAS.....	45
TABELA 8 -	DIFERENÇA MÍNIMA SIGNIFICANTE ENTRE AS MÉDIAS DE DO DAS SUBSTÂNCIAS IRRIGADORAS TESTADAS – TEMPO DE 48 HORAS.....	45
TABELA 9 -	MÉDIAS DE DENSIDADE ÓPTICA (DO) DO MEIO DE CULTURA BHI CONTENDO RASPAS DE DENTINA DE INCISIVOS HUMANOS CONTAMINADOS POR <i>E. FAECALIS</i> E SUBMETIDOS À INSTRUMENTAÇÃO MECANIZADA AUXILIADA PELAS SUBSTÂNCIAS IRRIGADORAS TESTADAS – ANÁLISE TEMPO DE 72 HORAS.....	46
TABELA 10 -	DIFERENÇA MÍNIMA SIGNIFICANTE ENTRE AS MÉDIAS DE DO DAS SUBSTÂNCIAS IRRIGADORAS TESTADAS – TEMPO DE 72 HORAS.....	47
TABELA 11 -	MÉDIAS DE DENSIDADE ÓPTICA (DO) DO MEIO DE CULTURA BHI CONTENDO RASPAS DE DENTINA DE INCISIVOS HUMANOS CONTAMINADOS POR <i>E. FAECALIS</i> E SUBMETIDOS À INSTRUMENTAÇÃO MECANIZADA AUXILIADA PELAS SUBSTÂNCIAS IRRIGADORAS TESTADAS – ANÁLISE TEMPO DE 7 DIAS.....	48
TABELA 12 -	DIFERENÇA MÍNIMA SIGNIFICANTE ENTRE AS MÉDIAS DE DO DAS SUBSTÂNCIAS IRRIGADORAS TESTADAS – TEMPO DE 7 DIAS.....	48
TABELA 13 -	EVOLUÇÃO DA MÉDIA DE DENSIDADE ÓPTICA NOS INTERVALOS DE TEMPO ANALISADOS.....	50

RESUMO

O presente estudo verificou a capacidade antimicrobiana de três substâncias irrigadoras (hipoclorito de sódio a 1%, solução aquosa de clorexidina a 2% e solução de hidróxido de cálcio+tergenstol – HCT₂₀) em 80 incisivos centrais inferiores humanos contaminados por cepas de *E. faecalis*. Após o preparo químico-mecânico as substâncias irrigadoras foram neutralizadas e, amostras contendo raspas de dentina foram colhidas nos tempos 0, 48h, 72h e sete dias e depositadas em meio de cultura BHI esterilizado. Os tubos contendo as amostras foram mantidos em estufa a 37°C por 48 horas. A ação antimicrobiana foi analisada pelo método de turvação do meio de cultura BHI confirmado por meio de leitura em aparelho de espectrofotometria. Os resultados demonstraram que a solução aquosa de clorexidina a 2% e o hipoclorito de sódio a 1% apresentaram maior redução do número de microrganismos existentes no interior dos canais contaminados por *E. faecalis*, sendo estatisticamente superiores ao soro fisiológico e ao HCT₂₀ em todos os intervalos de tempo analisados. Não houve diferença estatisticamente significativa entre essas soluções, embora a solução aquosa de clorexidina a 2% tenha apresentado os menores níveis de crescimento microbiano em relação ao hipoclorito de sódio nos tempos de 48 h, 72 h e sete dias. O HCT₂₀ apresentou inferioridade, estatisticamente significativa, em relação ao hipoclorito de sódio a 1% e à solução aquosa de clorexidina a 2% em todos os tempos analisados, sendo, no entanto, estatisticamente superior ao soro fisiológico na redução do número de microrganismos.

Palavras chave: solução irrigadora, hipoclorito de sódio, digluconato de clorexidina, solução de hidróxido de cálcio+detergente (HCT₂₀), *E. faecalis*.

ABSTRACT

This work evaluated the antimicrobial activity of three chemical substances (1% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine and HCT₂₀) in 80 human lower central incisors infected with *E. faecalis*. After the chemo-mechanical shaping, the irrigants were neutralized and samples containing dentin chip were collected and inoculated in sterile BHI at 0, 48h, 72h and 7 days. The samples were then incubated at 37°C for 48h. Antimicrobial activity were analyzed by turbidity of the culture medium, confirmed by spectrophotometry. The results had demonstrated that the 1% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine presented desirable reduction in the number of microorganisms in the root canal infected with *E. faecalis*, statistically superior to the HCT₂₀ and fisiologic solution in all the time intervals analyzed. There were no significant difference between these solutions, even so the 2% chlorhexidine had had a lower microbial growth than sodium hypochlorite at 48h, 72h and 7 days. The HCT₂₀ was statistically inferior to the 1% sodium hypochlorite and the 2% chlorhexidine in all the time intervals analyzed, however it was statistically superior to the fisiologic solution in the reduction of the number of microorganisms.

Key Words: endodontic irrigants, sodium hypochlorite, chlorhexidine digluconate, HCT₂₀, *E. faecalis*.

1. INTRODUÇÃO

As soluções químicas auxiliares da instrumentação dos canais radiculares têm sido propostas e estudadas desde o século XIX. Várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas, desde então, na busca de soluções irrigadoras capazes de promover uma eficiente limpeza e anti-sepsia dos canais radiculares (FIDEL *et al.*, 1994; FAIRBANKS *et al.*, 1997; FERREIRA *et al.*, 1999; PÉCORA *et al.*, 2001; ESTRELA *et al.*, 2002; ESTRELA *et al.*, 2003).

Há fortes razões para o emprego dessas substâncias químicas durante a instrumentação, pois contribuem para o sucesso no tratamento dos canais radiculares. A dentina excisada deve ser englobada pela substância química auxiliar a fim de impedir sua deposição na porção terminal do canal. Além disso, a substância química auxiliar deve promover ação lubrificante facilitando o uso dos instrumentos endodônticos, ser solvente de restos orgânicos contaminados ou não, combater os possíveis microrganismos existentes, apresentar biocompatibilidade e baixa tensão superficial (YANG *et al.*, 1996 ; LEONARDO & LEAL, 1998; PAIVA & ANTONIAZZI, 1991; WALTON & TORABINEJAD, 1997; VAHDATY *et al.*, 1993; ABOU-RASS *et al.*, 1982).

Dentre as variáveis que contribuem para o sucesso do tratamento endodôntico, está a eliminação dos remanescentes pulpares. Esses fragmentos de tecidos podem servir como nutrientes para o desenvolvimento de colônias de microrganismos, dificultando a anti-sepsia adequada do canal radicular. Logo, a irrigação deve ser empregada antes, durante e após a instrumentação do canal radicular, possibilitando a remoção dos fragmentos do tecido pulpar e raspas de dentina que podem se acumular durante a instrumentação. Tais resíduos modulam o processo de limpeza no interior dos canais radiculares, sendo a ação mais eficaz da solução irrigadora que resultar em menor quantidade desses produtos (DE DEUS,1992; LOPES & SIQUEIRA JR., 1999; RAMOS & BRAMANTE, 2001).

A câmara pulpar e os canais radiculares de dentes sem vitalidade pode conter massa gelatinosa proveniente do fluido e material necrótico remanescente. Por essa razão, os canais devem ser lavados e irrigados com uma solução capaz de promover a anti-sepsia e dissolver matéria orgânica. A limpeza total da câmara pulpar e canais radiculares representa um dos aspectos mais importantes para a eficácia do tratamento endodôntico, principalmente nos dentes com polpas necróticas, nos quais os remanescentes devem ser removidos pela ação físico-química da solução irrigadora (SAQUY *et al.*, 1995; PÉCORA *et al.*, 2001).

Dentre os dispositivos desenvolvidos para auxiliar o cirurgião-dentista na prática endodôntica, pesquisas têm demonstrado que a instrumentação rotatória apresenta potencial para melhorar a qualidade do tratamento endodôntico (SOARES & GOLDBERG,2001; WEST & ROANE, 2000).

Nas últimas décadas, ênfase maior tem sido dada ao preparo dos terços médio e cervical do canal radicular por meio de instrumentos rotatórios, sendo que, Marshall & Pappin citam a técnica onde o preparo do canal radicular é realizado iniciando-se na porção cervical e prosseguindo gradualmente ao ápice, com o uso de instrumentos rotatórios de maior para menor calibre. A técnica apresenta a vantagem de um esvaziamento progressivo do canal radicular concomitante ao seu afunilamento, facilitando a irrigação e diminuindo a possibilidade de extrusão de material necrótico para região periapical além de evitar a compactação de raspas de dentina.

O emprego das soluções irrigadoras auxiliares durante o preparo químico-mecânico de canais radiculares constitui, portanto, um procedimento importante para a anti-sepsia dos mesmos. Embora o emprego dessas soluções deva se restringir ao canal radicular, é bem provável que as mesmas alcancem os tecidos vivos periapicais durante o tratamento endodôntico. Portanto, deve ser levado em consideração a tolerância tecidual durante a escolha da substância irrigadora.

Assim, a necessidade de métodos de tratamentos que possam aumentar a efetividade, diminuindo as etapas clínicas e o período de tempo de trabalho, têm promovido o contínuo desenvolvimento, bem como estimulado mais pesquisas acerca de novos materiais, equipamentos e instrumentos, para dessa forma, aprimorar a limpeza e anti-sepsia dos canais radiculares.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Considerações Gerais

Desde o final do Século XIX, a necessidade de se obter a limpeza, anti-sepsia e conformação do canal radicular para sua posterior obturação já era evidente para os profissionais e estudiosos que se dedicavam à terapêutica endodôntica. Em 1914, Callahan recomenda uma solução à base de colofônia durante a instrumentação de canais radiculares. Segundo o autor, a fluidez dessa solução permitia maior penetração no interior dos túbulos dentinários com conseqüente descalcificação da dentina e inibição da atividade de microrganismos no interior dos canais radiculares.

Durante a execução do tratamento endodôntico de dentes com necrose e infecção pulpar, o profissional deve utilizar meios adequados para promover a eliminação ou a máxima redução possível de bactérias do interior do sistema de canais radiculares (BADAN, 1952).

Várias substâncias químicas podem ser empregadas nas diferentes etapas do preparo do canal radicular, como auxiliares da instrumentação e na irrigação-

aspiração. A escolha dessas substâncias irá depender de suas propriedades físicas e químicas (LOPES & SIQUEIRA JR., 1999).

Em regiões inacessíveis aos instrumentos, a solução irrigadora pode dissolver ou romper os remanescentes de tecido duro ou mole para permitir sua remoção (WALTON & TORABINEJAD, 1997).

A capacidade de dissolução de matéria orgânica é uma propriedade necessária na escolha da substância química auxiliar da instrumentação, visando a remoção de tecido pulpar vivo ou necrosado. O tecido pulpar, mesmo vivo e não infectado, deve ser eliminado no momento do tratamento endodôntico para não servir de substrato para proliferação bacteriana (YANG *et al.*, 1996).

A solução irrigadora deve ser constantemente renovada para que não haja interferência da matéria orgânica nos efeitos antimicrobianos, uma vez que os fragmentos de tecido pulpar podem servir de meio para o desenvolvimento de numerosas colônias de microrganismos. Isso impediria a completa anti-sepsia do sistema de canais radiculares (GROSSMAN, 1963).

Backer *et al.* (1975) e Goldman *et al.* (1979) concluíram em seus estudos que o uso de volumes maiores de solução irrigadora deram melhores resultados, sendo a ação do fluxo da solução mais importante do que a capacidade de dissolver os tecidos.

Restos de tecido pulpar, microrganismos e raspas de dentina podem permanecer nas irregularidades das paredes do canal radicular mesmo após o preparo químico-mecânico. Sendo os microrganismos e seus produtos os principais responsáveis pela iniciação e perpetuação das patologias pulpares e perirradiculares. Durante tratamento endodôntico a limpeza e a anti-sepsia do

sistema de canais radiculares são importantes, sendo logradas pela ação mecânica dos instrumentos, penetração e refluxo da solução irrigadora bem como por sua ação química durante a instrumentação. Logo, o potencial antimicrobiano das substâncias químicas auxiliares deve ser maximizado, porém levando-se em consideração a capacidade lesiva das mesmas. (ABOU-RASS & PICCININO, 1982).

Além disso, uma instrumentação adequada, e cuidadosa irrigação devem ser levadas em conta, uma vez que têm se mostrado eficazes na anti-sepsia e redução de número significativo de microrganismos do interior do canal radicular (INGLE & BEVERIDGE, 1981).

A tensão superficial da solução é propriedade característica de cada líquido, variando com a temperatura e com o tipo de superfície contatada. Essa propriedade promove um fluxo da solução irrigadora para áreas inacessíveis aos instrumentos endodônticos (PAIVA & ANTONIAZZI, 1991).

Estudos *in vitro* e *in vivo* mostram que a tensão superficial das soluções irrigadoras é uma propriedade que determina a profundidade de penetração do líquido no interior do sistema de canais radiculares. Portanto, quanto menor a tensão superficial de uma substância, maior será sua capacidade de penetração e umectação, aumentando assim a efetividade da limpeza das paredes dentinárias (SOMMER *et al.*, 1966).

Segundo Leonardo (1998), a lubrificação auxilia o deslizamento dos instrumentos no interior do canal radicular.

As soluções irrigadoras diminuem o desgaste e preservam a capacidade de corte dos instrumentos e em canais atrésicos favorecem a passagem dos

instrumentos, até alcançar o comprimento de trabalho. Além disso, a dentina excisada deve ser englobada pela substância química auxiliar a fim de impedir sua deposição na porção terminal do canal radicular, o que prejudicaria o processo de antissepsia (GROSSMAN,1963; PAIVA & ALVARES, 1979).

Paiva & Antoniazzi (1991) recomendaram o emprego do Endo-PTC, utilizado de forma alternada com o Líquido de Dakin. Segundo os autores, o veículo dessa fórmula possui uma substância graxa dotada de capacidade detergente totalmente solúvel em água e estável mesmo em temperatura ambiente. O efeito lubrificante dessa combinação é útil para passagem dos instrumentos até o comprimento de trabalho durante a exploração e instrumentação dos canais radiculares atrésicos e com constrictões. Há uma diminuição do risco de entorse de instrumentos nas paredes do canal radicular, o que poderia levar à fratura do instrumento. A adição do Líquido de Dakin promove uma reação com grande liberação de oxigênio em estado nascente, que elimina, por ação mecânica, restos de dentina para o exterior do canal. Além disso, a presença do cloro colabora de modo incisivo para o clareamento e desodorização do canal radicular.

As soluções auxiliares da instrumentação não devem apresentar ação lesiva aos tecidos periapicais. No entanto, o hipoclorito de sódio, uma das soluções mais utilizadas em endodontia devido às suas características (capacidade antimicrobiana, solvente de tecidos, ação lubrificante etc.), é também muito tóxico aos tecidos vivos. Seu efeito nocivo aumenta com sua concentração devido ao alto teor de cloro, por isso muito cuidado deve ser tomado durante a irrigação com o auxílio dessa solução. Acidentes comuns envolvendo o uso do

hipoclorito como injeção na região periapical, no seio maxilar ou extravasamento por perfurações de raízes podem ocorrer quando utilizado com menos critério. Além disso, relatos de literatura mostram casos de hipersensibilidade causados pelo NaOCl devido ao seu elevado pH que confere à essa solução alto poder irritativo (SANTOS & SAMPAIO, 2001; SERPER *et al.*, 2004).

Byström *et al.* (1983) demonstraram em estudo *in vitro* a alta toxicidade do hipoclorito de sódio em células humanas. Para se obter uma citotoxicidade aceitável, o hipoclorito a 0,5% tem sido recomendado, uma vez que soluções mais concentradas apresentam maior ação tóxica aos tecidos periapicais.

Atualmente, a clorexidina vem se destacando na endodontia como substância auxiliar da instrumentação. Sua tolerância tecidual foi avaliada por Vaughan & Garnik em 1989. Os autores verificaram que pacientes submetidos a cirurgia periodontal, após bochechos com solução alcoólica de clorexidina a 0,125% apresentaram um reparo mais rápido e com grau de inflamação significativamente menor .

Segundo Mallman *et al.* (1996), observações realizadas com microscopia eletrônica de varredura, após o preparo químico-mecânico, têm revelado a presença de diminutos restos dentinários e uma substância amorfa aderida às paredes, formando um aglomerado pastoso que se deposita principalmente na região apical: o *smear layer* (denominação dada por Boyde *et al.* em 1963, os primeiros a descreverem essa formação na superfície do esmalte). Uma vez que o *smear layer* gerado pela instrumentação endodôntica consiste basicamente de *debris* calcificados, estaria indicado o uso de substâncias que sejam efetivas na remoção desses depósitos mineralizados. As soluções que quelam e

descalcificam são capazes de promover a remoção dessa camada superficial (FAIRBANKS *et al.*, 1997).

Ørstavik & Haapasalo (1990) relataram que o *smear layer* retarda mas não impede a ação de desinfetantes. Entretanto, com a remoção da camada, bactérias presentes nos túbulos dentinários podem facilmente serem destruídas. Desse modo, essa remoção permite o uso de agentes antimicrobianos de menor concentração, o que será benéfico uma vez que esses agentes mostram algum grau de toxicidade às células do hospedeiro.

2.2. Solução de Hipoclorito de Sódio

Os hipocloritos ou compostos halogenados são definidos como bases fortes cloradas e começaram a ser utilizados em 1792. Quando produzido pela primeira vez, o hipoclorito recebeu o nome de Água de Javale. Esse hipoclorito constituía-se de uma mistura de hipoclorito de sódio e potássio. Em 1821, Labarraque, químico francês, obteve o hipoclorito de sódio com 2,5% de cloro ativo, e essa solução passou a ser usada como antisséptico em feridas (PÉCORA, 2001).

O hipoclorito de sódio (de uso mais difundido) pode ser obtido pelas seguintes reações químicas:

MÉTODO INDUSTRIAL:



MÉTODO LABORATORIAL:



Todos os hipocloritos, quando em solução aquosa, exibem um equilíbrio dinâmico e conseqüentemente cumprem uma múltipla atividade: **hidróxido de sódio** (soda cáustica), que é um potente solvente de matéria orgânica e de gorduras, formando os sabões e sendo responsável pela elevada alcalinidade dos hipocloritos e **ácido hipocloroso**, que é um potente agente antimicrobiano por liberar cloro na forma nascente, que se combina com o grupamento amina das proteínas, formando cloraminas (anti-sépticos não solventes de matéria orgânica e que pela ação da luz sofrem decomposição liberando cloro) e liberam oxigênio nascente (RAMOS & BRAMANTE, 2001; ESTRELA *et al.*, 2002).



Em 1915, Dakin, químico norte-americano, durante a Primeira Guerra Mundial, propôs uma nova solução de hipoclorito de sódio a 0,5% de cloro ativo neutralizado com ácido bórico. Essa solução ficou conhecida como Líquido de Dakin. Observou que ao tratar feridas com hipoclorito a 2,5%, obtinha-se desinfecção, porém a cicatrização da ferida era demorada. Para verificar o que ocorria, diminuiu a quantidade de cloro ativo, desse modo constatou que os resultados eram os mesmos. Com isso, Dakin constatou que a demora na cicatrização era devido ao grande teor de hidróxido de sódio, independente da sua concentração de cloro. Com base nesse raciocínio, Dakin neutralizou a solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e pH 11, com ácido bórico a 0,4%. Isso possibilitou uma solução de hipoclorito de sódio com pH próximo ao neutro, conseguindo-se a desinfecção das feridas sem o efeito indesejável da ação das hidroxilas sobre os tecidos vivos (PÉCORA,2001).

Com relação ao poder antimicrobiano das soluções à base de cloro, é importante ressaltar que se deve conhecer a concentração do hipoclorito de sódio a ser utilizado na terapêutica endodôntica para se obter as reais vantagens que essa solução pode oferecer na anti-sepsia e limpeza dos canais radiculares. Por ser uma solução muito instável, perde por consequência, seu efeito antimicrobiano com o tempo. Para se evitar a oxidação do NaOCl, este deve ser mantido protegido da luz e do calor, devendo ser armazenado em vidro âmbar hermeticamente fechado (MC CLELLAND & WASS, 1922 ; FIDEL, *et al.*, 1994).

Segundo Grossman & Meiman (1941) nenhuma solução foi tão eficaz na limpeza de canais radiculares quanto a solução de hipoclorito de sódio a 5%. Vários estudos realizados pelos autores para verificação da capacidade de

solvência de tecidos orgânicos pelo hipoclorito de sódio demonstram sua ação superior em relação às demais soluções testadas. Uma polpa colocada inteira nesta solução foi dissolvida entre vinte minutos e uma hora .

Segundo Pécora *et al.* (1998), as soluções de hipoclorito de sódio tiveram sempre boa aceitação no processo de irrigação de canais radiculares, e há várias décadas preconiza-se o uso desta solução a 5% como meio auxiliar da instrumentação. Quando comparado com dióxido de sódio, ácido sulfúrico e papaína o hipoclorito de sódio a 5% foi capaz de dissolver tecido pulpar mais rápido do que qualquer das soluções testadas.

Grossman (1943) propôs uma técnica de irrigação que consistia no uso alternado de hipoclorito de sódio a 5% e peróxido de hidrogênio a 3%. Essa técnica visava a produção de um efeito maior na limpeza pela efervescência ocasionada pela liberação de oxigênio em estado nascente, ajudando assim a forçar os restos teciduais para fora do canal. Nessa técnica, a irrigação começa e termina com hipoclorito de sódio a fim de evitar a liberação de oxigênio após o curativo entre sessões.

De acordo com Sommer *et al.* (1966), a solução irrigadora de ação mais satisfatória é o hipoclorito de sódio na concentração de 4% a 6%. Segundo os autores, essa solução é escolhida na maioria dos casos devido à sua capacidade de dissolver tecidos necróticos, sangue e outras substâncias orgânicas encontradas no interior do canal radicular.

Moorer & Wessenlink (1982) verificaram os fatores que influenciavam a capacidade da solução de hipoclorito de sódio em dissolver tecido orgânico. Os autores constataram que o princípio ativo dessa solução depende das moléculas

de ácido hipocloroso presentes (HOCl). Esse ácido é consumido na sua interação com a matéria orgânica. Com isso, os autores concluíram que o poder da solução de hipoclorito de sódio em dissolver tecido orgânico depende : da quantidade de matéria orgânica e hipoclorito presentes; frequência e intensidade do fluxo e refluxo da solução irrigadora e da superfície de contato entre tecido e solução. Por esse motivo, a irrigação dos canais radiculares com hipoclorito de sódio deve ser abundante para que se tenha o máximo efeito.

Siqueira Jr. *et al.* (2000) verificaram *in vitro* a redução bacteriana produzida pela instrumentação e irrigação com hipoclorito de sódio nas concentrações de 1%, 2,5% e 5,25% comparadas com solução salina. Nesse estudo os canais radiculares foram inoculados com *Enterococcus faecalis* e irrigados com as soluções testadas. Os resultados mostraram que todas as soluções testadas reduziram significativamente o número de bactérias do interior dos canais quando comparadas à solução salina.

De acordo com Soares *et al.* (2001), as soluções de hipoclorito de sódio são mundialmente reconhecidas como coadjuvantes do preparo químico-mecânico dos canais radiculares. Ademais, é sabido que as propriedades dissolvente e antimicrobiana, bem como a citotoxicidade são fortemente influenciadas por sua concentração. Em pesquisa realizada por esses autores, notou-se maior incidência de dor à medida que se aumentou a concentração de cloro livre e de dor severa com soluções mais concentradas.

Durante o preparo químico-mecânico do canal radicular, a solução de hipoclorito de sódio deve, entre outras propriedades, promover a dissolução de tecido pulpar vivo ou necrótico. Quanto mais elevado o pH e a concentração de

cloro da solução de NaOCl, maior sua capacidade antimicrobiana. O alto pH interfere na integridade da membrana citoplasmática por meio da inibição enzimática irreversível, causando alterações biossintéticas no metabolismo celular e destruindo fosfolipídios (ABOU-RASS & OGLESBY, 1981; JOHNSON & REMEIKIS, 1993, ESTRELA *et al.*, 2003).

A solução de hipoclorito de sódio apresenta algumas vantagens e desvantagens quando comparada a outras soluções irrigadoras (Quadro – 1).

Quadro – 1. Vantagens e Desvantagens do Hipoclorito de Sódio

Vantagens	Desvantagens
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Relativamente barato 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Instável ao armazenamento
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rápida atuação 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Reage com matéria orgânica
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Desodorizante e lubrificante 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Corrosivo
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Atividade antimicrobiana contra bactérias, fungos e vírus 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Irritante para pele e mucosas
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ação solvente de matéria orgânica 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forte odor
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Concentrações facilmente determinadas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Descora tecidos
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Clareador 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Remove carbono da borracha

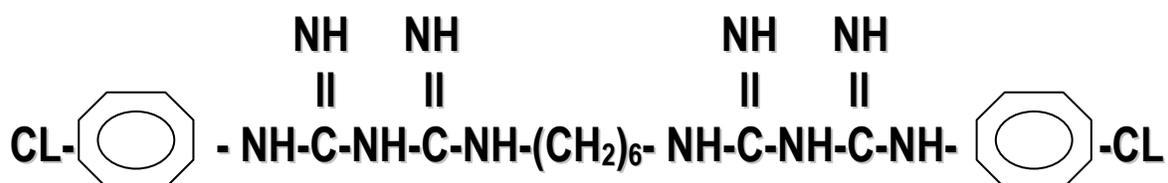
2.3. Digluconato de Clorexidina

A clorexidina, em suas várias concentrações, vem sendo largamente utilizada em periodontia e, recentemente, tem recebido grande destaque como solução endodôntica devido à sua grande capacidade antimicrobiana (JEANSONNE & WHITE, 1994; GOMES *et al.*, 2003; SASSONE *et al.*, 2003).

O digluconato de clorexidina é antimicrobiano pertencente à família das Biguanidas e possui capacidade de aderência às superfícies carregadas negativamente como: parede celular, superfície dos dentes, mucosas e saliva. Isso faz com que exista uma espécie de “reservatório” dessa substância em toda a superfície bucal por um período de até 12 horas, sendo sua liberação lenta e atuando como um bacteriostático (BEVILACQUA, 2000).

White *et al.* (1997) demonstraram *in vitro* a atividade residual da clorexidina, obtendo como resultados uma atividade antimicrobiana presente por até 72 horas em todos os dentes irrigados com uma concentração de 2,0%, e em dentes irrigados com uma concentração de 0,12%, a atividade antimicrobiana permaneceu por um período de 6 a 24 horas.

É descrita pela fórmula química 1,6-di(4-clorofenol-diguanido) hexanoxidina:



Tasman *et al.* (2000), em pesquisa realizada e sobre a tensão superficial das soluções irrigadoras, chegaram à conclusão de que a clorexidina obteve a menor tensão superficial (32 dyn/cm) e a água destilada a maior tensão superficial (70 dyn/cm). Nessa pesquisa puderam concluir que uma solução irrigadora com menor tensão superficial pode penetrar em maior profundidade no interior dos túbulos dentinários.

A clorexidina apresenta um pH que varia de 5.5 a 7.0, possuindo um amplo espectro antimicrobiano contra cepas gram-positivas, gram-negativas, aeróbios e anaeróbios facultativos. Além disso tem se mostrado como agente mais eficaz nos últimos vinte anos na redução da placa bacteriana e da gengivite em quaisquer de suas fases. É também a droga mais efetiva nos casos em que a higienização está comprometida ou impossibilitada de ser realizada. Outra característica favorável é em relação ao seu efeito residual, propriedade que permite sua indicação como medicação intracanal (VIANNA *et al.*, 2004; WUERCH *et al.*, 2004).

Estudos *in vitro* demonstraram a maior eficácia da solução de clorexidina em várias concentrações contra cepas de *E. faecalis*, quando comparada ao hidróxido de cálcio, utilizada como medicação intracanal. Contudo os efeitos inibitórios da clorexidina gel a 0,12% contra anaeróbios estritos e facultativos não são superiores aos da pasta de hidróxido de cálcio associada ao paramonoclorofenol canforado (LOPES & SIQUEIRA JR., 1999; GOMES *et al.*, 2003; BASRANI *et al.*, 2003).

A ação antimicrobiana da clorexidina consiste na desorganização citoplasmática da membrana celular seguida da coagulação de macromoléculas intracelulares. Em baixas concentrações, a clorexidina atua como bacteriostático e em altas concentrações é bactericida devido à precipitação do citoplasma celular. Na seqüência do processo de lise celular, a clorexidina é atraída para a membrana citoplasmática, na qual promove uma ruptura, permitindo a liberação de componentes citoplasmáticos de baixo peso molecular, como por exemplo íons potássio. Além disso, a clorexidina pode inibir a atividade de determinadas enzimas quando em baixas concentrações, possuindo a substância neste caso efeito bacteriostático. Recentemente, seu uso vem sendo sugerido como solução irrigadora durante o preparo químico-mecânico de canais radiculares por ter se mostrado um eficiente agente antimicrobiano, com a vantagem de possuir menor toxicidade quando comparada ao hipoclorito de sódio (EMILSON, 1977; LOPES & SIQUEIRA JR., 1999; LIN *et al.*, 2003; ERCAN *et al.*, 2004).

Estrela (2000), em estudo realizado *in vitro*, determinou a concentração inibitória mínima da clorexidina a 2% e do hipoclorito de sódio a 1% para inibição de *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans*. Os resultados mostraram que a concentração inibitória mínima de clorexidina foi de 0.000002% para *P. aeruginosa* e de 0.02% para *E. faecalis*, *B. subtilis* e *C. albicans* enquanto a concentração inibitória mínima do hipoclorito para *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* foi de 0.1%.

Gomes *et al.* (2001) compararam *in vitro* o efeito antimicrobiano de várias soluções irrigadoras. A clorexidina líquida, nas concentrações de 0.2% e 2%, apresentou como resultado cultura negativa de microrganismos nos tempos de 30

segundos e 1 minuto respectivamente. Demonstraram com isso que a eficácia da solução de clorexidina contra cepas de *E. faecalis* irá depender do fator tempo e da concentração da solução.

2.4. Solução de Hidróxido de Cálcio

Levando em consideração o potencial irritativo das soluções irrigadoras à base de cloro, uma tendência do uso de antissépticos mais suaves faz com que haja indicação de uma gama enorme de soluções e associações de soluções irrigadoras. Dentre as soluções com baixo poder irritativo, a solução de hidróxido de cálcio merece destaque na Endodontia como solução irrigadora e medicação intracanal devido ao seu relativo potencial antimicrobiano. É recomendada como solução irrigadora em casos de biopulpectomia, por não provocar irritação no tecido perirradicular, nem destruir o coto pulpar. Em casos de hemorragia pulpar pode ser empregada como substância hemostática, que atua por vasoconstrição, eliminando a possibilidade de hemorragia tardia (LOPES & SIQUEIRA JR., 1999; SANTOS & SAMPAIO, 2001).

Proposto para o uso em 1920 por Hermann, o hidróxido de cálcio é uma base forte, com pH aproximado de 12,5, apresentando baixa solubilidade em água. Seus efeitos benéficos estão associados à dissolução dessa substância em ambiente aquoso, liberando íons cálcio e hidroxila. Os íons cálcio são responsáveis pela baixa solubilidade do hidróxido de cálcio, conferindo a esse fármaco a propriedade de biocompatibilidade, uma vez que impede sua

penetração em profundidade nos tecidos, o que poderia resultar em um efeito nocivo à região perirradicular (SIQUEIRA JR., 1997).

Em 1987, Barbosa & Almeida, partindo da solução de hidróxido de cálcio 0,2%, prepararam outras soluções com a adição de um tensoativo (lauril-dietileno-glicol-éter sulfato de sódio – Tergentol) até a obtenção de uma solução com tensão superficial e pH considerados ótimos. Os autores objetivaram diminuir a tensão superficial, aumentando, assim, a capacidade antimicrobiana da solução de hidróxido de cálcio. Concluíram que a solução de hidróxido de cálcio pura a 0.2% não apresentou atividade antimicrobiana sobre 36,37% dos microrganismos testados, entre eles: *S. faecalis*, *S. sanguis* e *S. salivarius*. A adição do agente tensoativo (Tergentol) tornou a solução de hidróxido de cálcio eficaz frente a esses microrganismos. Levando-se em consideração o fator tempo, o estudo revelou que a associação do hidróxido de cálcio mais 10% de Tergentol (HCT₁₀) atuou contra os microrganismos testados com um tempo mínimo necessário de 30 minutos de contato. Já a associação a 20% (HCT₂₀) mostrou ser mais antisséptica, sendo que o único microrganismo que sobreviveu após 10 minutos foi o difteróide e, bactérias mais resistentes como *S. aureus* não sobreviveram após 5 minutos de contato com a solução testada.

Ørstavik & Haapasalo (1990) compararam a capacidade antimicrobiana do paramonoclorofenol canforado e do hidróxido de cálcio contra *E. faecalis*. Os resultados mostraram a baixa capacidade antimicrobiana do hidróxido de cálcio principalmente em regiões da dentina que foram incubadas com o microrganismo por um longo período de tempo.

Barbosa *et al.* (1994) verificaram em estudo *in vitro* que a adição de detergente à solução de hidróxido de cálcio, aumentou a eficácia antimicrobiana da solução. A solução de hidróxido de cálcio contendo 20% de detergente proporcionou a melhor combinação de pH elevado, baixa tensão superficial e atividade antimicrobiana contra microrganismos rotineiros encontrados no interior do canal radicular.

Estrela *et al.* (1995) relataram que o fator determinante na velocidade de ação do hidróxido de cálcio está na manutenção de altas concentrações de íons hidroxila que causam a inativação de enzimas da membrana citoplasmática de bactérias. Essa inativação enzimática se reflete também no crescimento, divisão celular e atividade metabólica das células bacterianas. A desintegração química da membrana está relacionada com a destruição de ácidos graxos não-saturados ou fosfolípidios devido à alta concentração de íons hidroxila que interferem no processo de peroxidase lipídica e na reação de saponificação.

Estudo realizado *in vitro* por Estrela *et al.* (1999) demonstrou que o contato direto do hidróxido de cálcio com diferentes microrganismos apresentou efeito antimicrobiano positivo após 3 dias, entretanto, o fármaco apresentou ineficácia antimicrobiana em túbulos dentinários contaminados com *E. faecalis*, mesmo após sete dias de permanência deste no interior do canal radicular, comprovando a necessidade do contato direto do fármaco com as cepas de microrganismos para que haja o efeito antimicrobiano desejado.

2.5. Instrumentação Mecanizada

O preparo mecânico dos canais radiculares é um aspecto altamente significativo na terapia endodôntica, uma vez que envolve o alargamento e alisamento das paredes dentinárias bem como a remoção do conteúdo da cavidade pulpar propiciando a redução do número de microrganismos presentes principalmente em dentes sem vitalidade pulpar e com presença de lesão periapical, deixando o canal em condições para receber o material obturador.

Para se alcançar uma biomecânica cada vez mais eficiente, diferentes técnicas e métodos de instrumentação têm sido propostos com a associação de substâncias químicas que possam exercer ação antimicrobiana durante a terapêutica endodôntica. O preparo dos canais radiculares foi por muitos anos realizado de forma manual, por meio de técnicas em que utilizavam instrumentos de calibres finos para os mais calibrosos seqüencialmente, até a dilatação da porção apical do canal, conhecida por técnica clássica, que deixava o canal com formato cilíndrico (COFFAE & BRILLIANT, 1975; WALTON, 1976; ALLISON *et al.*, 1979).

Clem, em 1969, idealizou uma técnica onde se realizava a instrumentação mais conservadora no terço apical e uso de instrumentos mais calibrosos nos terços médio e cervical, favorecendo a desinfecção e alargamento do canal de forma cônica, demonstrando ser mais eficiente que as técnicas clássicas, sendo posteriormente preconizada por outros autores (MARTIN, 1974; SCHILDER, 1974; WEINE *et al.*, 1975; MULLANEY, 1979).

O escalonamento ou a necessidade de uma maior conicidade no preparo do canal radicular é bem exposto nos princípios ditados por Schilder (1974), em trabalho que se tornou clássico na literatura endodôntica, introduzindo um novo conceito de preparo utilizando duas palavras que o caracterizava : *cleaning and shaping* , ou seja, limpando e modelando. O preparo deve desenvolver um afunilamento contínuo do acesso coronário ao ápice radicular, devendo o diâmetro da seção transversal ser cada vez menor à medida que se aproxima do ápice. Além disso, o preparo deve ser semelhante ao formato original do canal, devendo o forame ser mantido em sua posição espacial original e com abertura tão pequena quanto possível.

Por meio dos novos conceitos na endodontia, ênfase maior passou a ser dada ao preparo dos terços cervical e médio por meio de instrumentos rotatórios, onde o preparo é iniciado na porção cervical, prosseguindo gradualmente ao ápice com o uso de instrumentos de maior para menor calibre coadjuvados pelas fresas de Gates Glidden. Com isso, um desgaste mais uniforme e eficiente associado a um afunilamento progressivo do canal proporcionaram maior facilidade na irrigação, diminuindo a possibilidade de extrusão de material necrótico à região periapical (MARSHALL & PAPPIN, 1978; MULLANEY, 1979).

As limas manuais fabricadas em liga de aço inoxidável são consideradas, ainda hoje, como os instrumentos mais utilizados no mundo, oferecendo boa resistência à fratura, sendo pré- curváveis e relativamente rígidas, permitindo sua utilização na ultrapassagem, exploração e cateterismo de canais radiculares atresícos. Porém, a tentativa de se utilizar esses instrumentos confeccionados em aço inoxidável movidos a motor não atingiu o êxito esperado. Esse objetivo só se

tornou realidade em 1988, quando Walia, Brantley & Gerstein preconizaram a utilização de uma nova liga metálica de níquel e titânio para a fabricação de instrumentos endodônticos manuais e rotatórios, apresentando uma flexibilidade duas a três vezes superior às limas convencionais além de uma maior resistência à fratura, diminuindo a dificuldade de instrumentação nos canais curvos sem comprometer os princípios que regem o sucesso da terapia endodôntica (CAMPS & PERTOT, 1995; BERRY *et al.*, 1998; SCHRADER *et al.*, 1999)

A despeito das vantagens apresentadas pelos instrumentos de níquel - titânio, surgiram sistemas rotatórios que constituem a terceira geração no aprimoramento e simplificação da Endodontia e que empregam materiais com características especiais que incorporam novos conceitos, objetivando amenizar os problemas que ocorrem durante a limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares. Esses instrumentos se adaptam à anatomia do canal, promovendo desgaste seletivo e conferindo alto grau de segurança, diminuindo de maneira eficiente o tempo de trabalho. Atualmente são encontrados diferentes sistemas rotatórios: Sistema *Quantec* Série 2000 (Analytic Endodontics), Sistema *Profile* (Dentsply/Maillefer), Sistema *Profile* Série 29 (Dentsply/ Tulsa), *Sistem Pow-R* (Moyco-Union Broach), Sistema *GT* (Dentsply/Maillefer), Sistema *Lightspeed* (Lightspeed), Sistema *Hero* 642 (Micro-Mega), Sistema *K3* (SDS Kerr), Sistema *Pro Taper* (Dentsply/Maillefer), entre outros. Esses sistemas apresentam instrumentos que oferecem não só aumento de conicidade por milímetro de comprimento de sua parte ativa, da ponta para sua base, como alterações na sua conformação, permitindo a realização de um preparo cônico do canal radicular atresiado e curvo. Ao serem introduzidos e acionados a motor no interior do canal

radicular, giram 360^o no sentido horário com velocidade constante em direção coroa/ápice, promovendo a limpeza e levando restos necróticos, orgânicos e raspas de dentina em direção à câmara pulpar. (McSPADEN, 1993; FERREIRA *et al.*, 1989; LOPES *et al.*, 1997; BRAMANTE *et al.*, 1987; BLUM *et al.*, 1999; MORAES, ARAGÃO & HERK, 1999).

Ribeiro (1997) realizou estudo evidenciando a presença de microrganismos na profundidade da massa dentinária, revelando que em dentes infectados, a penetração bacteriana é variável de acordo com os terços radiculares. No terço cervical, bactérias tomavam 77% da espessura total da dentina, no terço médio 41,5%, enquanto no nível apical a invasão bacteriana foi detectada em profundidade correspondente a 43% do volume total da estrutura dentinária. O estudo demonstrou que, com o método de instrumentação coroa-ápice, o desgaste das paredes dentinárias promove um esvaziamento progressivo, alargando adequadamente o canal radicular e diminuindo a possibilidade de extrusão de restos necróticos e microrganismos para a região periapical.

Muitos estudos vêm sendo realizados na procura de uma técnica de preparo dos canais radiculares que mais se aproxime do ideal, buscando facilitar e agilizar o alargamento destes, dando forma cônica e removendo todo o conteúdo do seu interior. Aliado ao desenvolvimento técnico verifica-se a necessidade de aprimoramento dos instrumentos endodônticos, no sentido de aperfeiçoar suas propriedades físicas e mecânicas com intuito de melhorar o seu desempenho. Tem-se reforçado com isso, a necessidade do uso das substâncias auxiliares como coadjuvantes nesse processo.

2.6. Relação entre Microrganismos e Infecções de Origem Endodôntica

A terapia endodôntica está fortemente relacionada com a eliminação e/ou prevenção da contaminação da polpa e tecidos periapicais por microrganismos, exigindo um conhecimento básico sobre a influência da microbiota bucal nesses tecidos.

Em 1678, Lewenhoek construiu o primeiro microscópio e estudou estruturas dentais, fazendo uma descrição exata dos canalículos dentinários e assinalando também a presença de microrganismos no interior do canal radicular. Miller, em 1890, evidenciou as primeiras bactérias no interior do canal, determinado a importância dos microrganismos na etiologia das doenças pulpares e periapicais (RAMOS & BRAMANTE, 2001).

Com os relatos de Miller, profissionais da época passaram a procurar um medicamento capaz de destruir todos os microrganismos e solucionar o problema de dentes com polpa infectada e necrosada, iniciando-se a primeira época da história da Endodontia – Era Germicida (LEONARDO & LEAL, 1998).

Até o início do Século XX, a endodontia era realizada de forma imprecisa em função das limitações de técnica e de conhecimento da época. A primeira grande revolução da história da endodontia foi com a descoberta dos raios-x por Röntgen em 1895. Quatro anos após a descoberta dos raios-x, Kells foi o primeiro a utilizá-lo clinicamente para verificação da obturação do canal radicular. Esse meio de diagnóstico, embora pouco difundido, evidenciou uma alteração

patológica até então desconhecida, que eram lesões periapicais (LEONARDO & LEAL, 1998).

Fish, em 1939, desenvolveu um dos trabalhos mais importantes da época, estabelecendo que o foco de infecção localizava-se no interior do canal radicular, enquanto que na região periapical encontrava-se as zonas de defesa orgânica. Seu estudo consistiu na introdução de fibras de algodão embebidas em caldo de cultura microbiana nos maxilares de cobaias. Os animais foram mortos em intervalos de 4 a 46 dias e o tecido envolvido no processo foi removido e submetido a cortes histológicos. Quatro zonas dispostas concentricamente foram descritas pelo autor. A primeira, denominada de *zona de infecção* é caracterizada pela presença de leucócitos polimorfonucleares circundando a área central de microrganismos que representam a infecção. Na segunda região, denominada *zona de contaminação* não se evidenciou a presença de microrganismos, mas suas toxinas produziram uma destruição celular. Nesta zona detectou-se também a presença de linfócitos e, às vezes, presença de restos celulares. A terceira região denominada de *zona de irritação* era caracterizada pela presença de histiócitos e osteoclastos, destruindo a trama colágena e provocando a lise óssea, formando um grande vazão em torno da lesão, preenchido por leucócitos polimorfonucleares e neutrófilos na tentativa de impedir o avanço da destruição óssea. A quarta região denominada de *zona de estimulação* era caracterizada pela presença de fibroblastos e osteoblastos, estimulados pelas toxinas altamente diluídas e responsáveis pela formação de tecido ósseo mais compacto e irregular, constituindo uma verdadeira barreira de defesa orgânica. A partir desse trabalho, a

fase do preparo do canal radicular com emprego de instrumentos e substâncias químicas, tornou-se responsável pela anti-sepsia durante a terapia endodôntica.

Com o trabalho de Kakehashi *et al.* (1965) ficou definida a importância dos microrganismos e suas associações com lesão periapical. Os autores expuseram polpas dentais de ratos assépticos e de ratos convencionais ao meio bucal. Após o tempo estabelecido de 1 a 42 dias, os animais foram sacrificados e os tecidos analisados. No oitavo dia, o grupo de ratos convencionais, ou seja, portadores de microbiota bucal comum, apresentou inflamação intensa com necrose das polpas e periápices. O inverso foi encontrado no grupo dos ratos assépticos, ou seja, não houve necrose pulpar, granuloma ou abscessos na região apical, mesmo após o intervalo de 42 dias e com 28 dias foi observado o fechamento da ponte de dentina. Os autores concluíram que a presença de microbiota bucal é o maior determinante na cicatrização das polpas expostas.

Até os anos 70 acreditava-se que os microrganismos facultativos eram as microrganismos predominantes em canais radiculares infectados, fato explicado frente às limitações dos métodos de cultura empregados até aquela época, uma vez que as amostras era colhidas somente em aerobiose, não possibilitando o isolamento de microrganismos anaeróbios. Na mesma década, com a introdução da câmara anaeróbia, ocorreu um grande desenvolvimento nos métodos de cultura para anaeróbios, os quais permitiram o isolamento e a identificação de bactérias anaeróbias obrigatórias em dentes com polpas necrosadas (LEONARDO & LEAL, 1998).

Fabricius *et al.* (1982) estudaram a distribuição de diferentes espécies bacterianas em 24 canais radiculares contaminados de macacos. Os dentes

foram desvitalizados e expostos ao meio bucal por uma semana, e depois selados por diferentes períodos de tempo. Análise microbiológica foi realizada após 90,180 e 1060 dias. Os autores concluíram que a proporção de bactérias anaeróbias obrigatórias em canais selados aumenta com o tempo e multiplicam-se na região apical mais rapidamente do que as facultativas. Ainda no mesmo ano, os autores estudaram o potencial de 11 cepas bacterianas puras e em diferentes combinações de induzir lesão periapical em macacos. Após a inoculação das cepas em 75 canais radiculares desvitalizados de 7 macacos, os dentes foram selados por seis meses. Infecções com *Bacteroides* combinadas com outras bactérias foi a cepa predominante em todos os dentes radiculares e foi observado reações periapicais nestes dentes. Em contraste, quando inoculadas isoladamente no canal radicular, cepas de *Bacteroides* não sobreviveram. Contudo, cepas de *Enterococcus* sobreviveram em culturas puras em todos os dentes. Os autores concluíram que certas combinações possuem grande capacidade de induzir lesão periapical e que as bactérias anaeróbias desempenham um papel importante na manutenção das infecções crônicas.

Em 1987, Trostad *et al.* examinaram oito lesões periapicais assintomáticas e refratárias ao tratamento endodôntico para detectar a presença de bactérias. Por meio de técnica cirúrgica asséptica, obteve-se acesso à lesão periapical e três tipos de amostras foram preparadas: A – amostra microbiológica do exsudato ; B – amostra da lesão enucleada; C – amostra por raspagem da superfície radicular apical e fragmentos. As amostras foram colocadas em meio de transporte e processadas com técnica anaeróbia adequada. O crescimento bacteriano foi evidenciado nas amostras das oito lesões, sendo que em duas delas as bactérias

eram exclusivamente anaeróbias e em seis lesões as bactérias predominantes eram anaérobias. O estudo mostrou que os microrganismos podem estar presentes nos tecidos periapicais e sobreviverem por longo período de tempo sem causar sintomatologia.

Sjögren *et al.* (1990) analisaram os fatores que afetam os resultados finais do tratamento endodôntico, avaliando 356 pacientes nos períodos de 8 a 10 anos após o tratamento. Os resultados mostraram uma dependência direta do estado pré-operatório da polpa e dos tecidos periapicais. O índice de sucesso em canais que não apresentavam lesão periapical anterior ao tratamento foi de 99%. Nos casos com necrose e lesão periapical o índice de sucesso foi de 86%, e de apenas 62% para os casos de retratamento com lesão periapical.

Sundqvist (1992) estudou as associações entre microrganismos de 65 canais radiculares de dentes humanos com polpa mortificada e lesão periapical. O autor observou crescimento bacteriano em todos os canais, com um total de 353 cepas isoladas, sendo 90% delas anaeróbias, com predominância de *Fusobacterium nucleatum* seguido da *Prevotella intermédia*. Os resultados mostram uma microbiota característica no interior do canal radicular e existência de fortes inter-relações entre diferentes espécies microbianas e que mudanças na população desta flora ocorrem em decorrência dessas interações, do ambiente e das pressões seletivas do canal radicular.

No mesmo ano, o autor analisou a microbiota do canal radicular, relatando que mais de 300 espécies de bactérias foram reconhecidas como habitantes normais da cavidade bucal. Porém as bactérias presentes no canal radicular infectado formam um grupo restrito, na faixa de 1 a 12 espécies. O autor descreve

vários fatores que podem influenciar no crescimento e colonização de bactérias como: disponibilidade de nutrientes; baixa tensão de oxigênio em polpas necróticas e as interações dos microrganismos. Durante o preparo químico-mecânico do canal radicular o ambiente anaeróbio é rompido, interferindo na interação bacteriana. Após o selamento, o ambiente anaeróbio é restabelecido e a penetração de fluidos teciduais pode determinar a multiplicação bacteriana, recontaminando o canal radicular.

Sen *et al.* (1995) realizaram estudo sobre a localização da flora microbiana de canais radiculares infectados e o grau de penetração dos microrganismos no interior dos canalículos dentinários por meio de microscopia eletrônica de varredura. Foram selecionados 10 molares humanos superiores e inferiores com lesão periapical, cujos canais ficaram expostos por tempo indeterminado ao meio bucal. Os canais palatinos do dentes superiores e os distais dos inferiores foram cortados no sentido longitudinal e analisados ao microscópio. Em 6 espécimes a microflora consistia basicamente de cocos e bastonetes, e em 4 foram encontrados fungos, entretanto nem todos os canalículos apresentavam invasão bacteriana. A profundidade de penetração de bactérias no interior dos canalículos dentinários variou de 10 a 150 μm . Os autores concluíram que a instrumentação mecânica e irrigação não eliminam todos os microrganismos e sugerem o uso de agentes antimicrobianos entre sessões.

Sundqvist *et al.* (1998) realizaram análise microbiológica de 54 dentes com obturação endodôntica e lesão periapical persistente. Os dentes foram submetidos ao retratamento e amostras microbiológicas foram colhidas. A flora microbiana encontrada foi basicamente de uma única espécie e com predominância de

bactérias Gram-positivas, sendo a bactéria mais comumente encontrada foi o *E. faecalis*. Os autores concluíram que a microflora de dentes tratados endodonticamente e com lesão persistente difere da flora bacteriana de dentes não submetidos ao tratamento endodôntico.

Bammann & Estrela (1999) relataram que espécies do gênero *Enterococcus* têm significativa importância na microflora endodôntica e que essas bactérias possuem resistência inerente a agentes antimicrobianos, estabelecendo um processo infeccioso de difícil tratamento. Representantes desse gênero, de modo especial o *Enterococcus faecalis*, foram relacionados a casos de insucesso no tratamento endodôntico.

3. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é verificar e comparar (*in vitro*) a descontaminação no interior de canais de incisivos humanos contaminados com cepas de *E. faecalis* após o preparo químico-mecânico, utilizando três soluções irrigadoras : Hipoclorito de sódio a 1%, Solução de Clorexidina aquosa a 2% e HCT₂₀, adotando o soro fisiológico como solução controle.

4. MATERIAL E MÉTODO

Este trabalho foi submetido à apreciação do comitê de Ética em Pesquisa e aprovado conforme documento de Processo de Análise de Projeto de Pesquisa, nº 010/2005, de 07 de junho de 2005.

4.1. Seleção das Soluções Auxiliares no Preparo Químico-Mecânico dos Canais Radiculares

Para avaliação da ação antimicrobiana da solução irrigadora durante o preparo químico-mecânico do sistema de canais radiculares, foram selecionadas quatro substâncias auxiliares conforme Tabela 1, adotando o soro fisiológico como controle.

Tabela 1 – Substâncias auxiliares durante o preparo químico-mecânico do sistema de canais radiculares

Substância	Concentração	Fabricante
Soro fisiológico	0,9%	A Fórmula Brasília- DF
Hipoclorito de Sódio	1,0%	A Fórmula Brasília- DF
Digluconato de Clorexidina	2,0%	A Fórmula Brasília- DF
HCT ₂₀	1,2% Ca(OH) ₂ 20% lauril- sulfato de sódio 0,125%	A Fórmula Brasília- DF

4.2. Seleção e Preparo Mecânico dos Dentes

Foram selecionados 80 incisivos centrais inferiores humanos, fornecidos pelo banco de dentes do laboratório de endodontia da Universidade de Brasília - UnB, apresentando tamanho e formas aproximadas, com raízes íntegras, retas e ápices totalmente formados. Os dentes encontravam-se armazenados em solução contendo hipoclorito de sódio a 1% até o momento de sua utilização.

Radiografias dos dentes no sentido proximal, utilizando filme radiográfico periapical (Eastman Kodak Comp., USA), foram obtidas previamente para evidenciar obstrução do canal radicular e ausência de variações anatômicas.

Foram feitas as aberturas coronárias, objetivando o acesso livre e direto ao canal radicular, com turbina de alta rotação e broca diamantada esférica de maneira convencional. Concluídas as aberturas coronárias, a exploração dos canais radiculares foi feita com lima tipo K de calibre 15 (Maillefer – Dentisply – USA).

O terço apical de todos os dentes foi selado com resina epóxi (Aradilte® - HOOPY – BRASCOLA LTDA. - Brasil) e a superfície externa das raízes receberam duas camadas de verniz cavitário (Cavitine, SS-white) para eliminar a possibilidade de contaminação da superfície radicular externa pelo *E. faecalis* (Figura 5 – ANEXO B).

O comprimento de trabalho da cada canal radicular situou-se 1mm aquém do forame apical, confirmado pelo método visual direto utilizando uma lima K calibre 15 (Maillefer – Dentisply – USA).

Na seqüência, os dentes foram aleatoriamente divididos em quatro grupos experimentais de 20 dentes e posteriormente autoclavados.

4.3. Preparo do Meio de Cultura Brain Heart Infusion (BHI)

O meio de cultura líquido *Brain Heart Infusion* (BHI, Difco Laboratories, Detroit - USA) foi preparado com 3,7g de BHI para cada 100ml de água destilada e deionizada.

Todo o conteúdo preparado para o experimento foi esterilizado em autoclave e resfriado à temperatura ambiente antes de ser utilizado.

A composição do meio de cultura BHI empregado está especificado a seguir:

BRAIN HEART INFUSION	_____	(por litro)
<i>Infusão de cérebro</i>	-----	200,0 g
<i>Infusão de coração de bo</i>	-----	250,0 g
<i>Peptona de proteose</i>	-----	10,0 g
<i>Dextrose</i>	-----	2,0 g
Cloreto de sódio	-----	5,0g
<i>Fosfato de sódio</i>	-----	2,5g

4.4. Preparo da Suspensão Microbiana

Amostras de *Enterococcus faecalis* liofilizadas (American Type Culture Collection ATCC® 19433) cultivadas em meio BHI foram selecionadas para o experimento.

As cepas semeadas em meio BHI foram incubadas a 37° C por 48 horas.

As suspensões de microrganismos foram previamente ajustadas ao tubo número 2 da escala de McFarland (Tabela 4 - ANEXO A), apresentando aproximadamente 6×10^6 CFU/ml, seguindo padrões estabelecidos pelo *National Commttee for Clinical Laborttory Standart* (NCCLS).

O crescimento bacteriano foi evidenciado pela constatação macroscópica da turvação deste meio de cultura.

4.5. Contaminação do Sistema de Canais Radiculares

Após os dentes serem autoclavados, os mesmos foram inoculados com meio de cultura BHI contaminado com *E. faecalis* por meio de seringas descartáveis de volume suficiente para preencher o interior dos canais e, limas tipo K (Maillefer – Dentisply – USA) de calibre 15 foram utilizadas para auxiliar a penetração do inóculo.

A abertura coronária de todos os dentes foi selada com bolinha de algodão estéril e os dentes foram colocados em uma grade na posição vertical no interior de um recipiente estéril e umidificado.

O recipiente contendo os dentes foi mantido em estufa por 48 horas a uma temperatura de 37°C e logo após esse período, foi realizada a confirmação da contaminação em cada grupo. Para a confirmação do crescimento microbiano, foram selecionados aleatoriamente 5 dentes de cada grupo experimental e, com auxílio de limas K de calibre 15 (K-file, Maillefer – Dentisply – USA), raspas de dentina foram coletadas e colocadas em tubos de ensaio numerados de 1 a 5 contendo 5 ml de meio BHI estéril.

A confirmação foi feita pela constatação macroscópica da turvação do meio de cultura com auxílio da escala de McFarland, após 48 horas de incubação a 37°C.

Cinco dentes autoclavados e não contaminados serviram de controle negativo e cinco dentes contaminados e não submetidos ao preparo químico-mecânico serviram como controle positivo.

Além disso, cinco dentes autoclavados e não contaminados foram irrigados com cada solução testada e, após a neutralização da solução, os canais foram secos com pontas de papel absorvente e amostras de raspa de dentina foram colhidas com limas K de calibre 15 (K-file, Maillefer – Dentisply – USA) e depositadas em tubos contendo meio de cultura BHI esterilizado. Os tubos contendo as amostras foram mantidos em estufa a 37°C por sete dias. Após esse intervalo de tempo foi feita a leitura do meio BHI em espectrofotômetro, confirmando que a quantidade de substância irrigadora carregada para o interior do meio de cultura não foi capaz de promover alteração ou turvação no meio BHI, eliminando com isso a possibilidade de interferência das mesmas na turvação obtida nos resultados desse estudo.

Confirmado o crescimento bacteriano no interior dos canais, os dentes foram instrumentados utilizando-se o sistema rotatório K3-Endo® com auxílio das soluções irrigadoras testadas.

Após a instrumentação, os dentes foram incubados em estufa a 37°C com presença de umidade, passando por um novo controle de verificação da descontaminação nos tempos 0, 48 h, 72 h e 7 dias.

4.6. Método de Descontaminação Empregado

Analisou-se o potencial antimicrobiano de quatro soluções irrigadoras em associação ao preparo mecânico com instrumentos do sistema rotatório K3-Endo® os quais encontram-se descritos a seguir:

- Instrumentação rotatória e irrigação com solução aquosa de digluconato de clorexidina a 2%.
- Instrumentação rotatória e irrigação com hipoclorito de sódio a 1%.
- Instrumentação rotatória e irrigação com HCT₂₀.
- Instrumentação rotatória e irrigação com soro fisiológico.

Após o preparo químico-mecânico, as soluções irrigadoras testadas foram neutralizadas para que não houvesse interferência do agente antimicrobiano no crescimento das amostras no meio de cultura (BHI), o que poderia acarretar alterações nos resultados obtidos.

As soluções de clorexidina a 2%, hipoclorito de sódio a 1% e HCT₂₀ foram neutralizadas respectivamente com 5 ml de : Lecitina (0,5%)+ Tween 80 (1%), Tiosulfato de Sódio (1%) e soro fisiológico respectivamente.

Para realização da instrumentação mecânica rotatória foi utilizado o micromotor elétrico para Endodontia *ENDO-PRO*[®] (Driller Equipamentos Elétricos Ltda., São Paulo), ajustado a uma velocidade de 350 rpm constante no sentido horário e instrumentos de níquel-titânio do sistema rotatório K3-Endo[®].

Os canais foram instrumentados até o comprimento de trabalho com limas de calibre 25 e conicidade 0.06, empregando-se a técnica de preparo escalonada segundo fabricante (SybroEndo[®]), conforme seqüência expressa na Tabela 2.

Tabela 2 – Seqüência da Técnica de Preparo do Canal Radicular com Sistema rotatório K3-Endo®

Instrumentação Coroa-ápice	Instrumento	Conicidade (mm/mm)
Terço Cervical	Orifice opener 1 e 2	0,10 e 0,08
Terços médio e apical	40	0,06
	35	0,06
	30	0,06
	25	0,06
	20	0,06
Comprimento de Trabalho	25	0,06

canal radicular com seringa Luer de 5ml e agulha número 30-5, sendo a irrigação realizada a cada troca de lima. As soluções foram utilizadas lentamente entre cada etapa de modelagem, perfazendo um total de 15 minutos de contato com as paredes dos canais antes de serem neutralizadas. Na seqüência, os canais de todos os dentes foram secos com pontas de papel absorvente estéreis de número 40 (Tanari, Tanariman Indústria- Brasil) para posterior coleta da amostra.

4.7. Determinação da Ação Antimicrobiana

Para determinação da efetividade dos métodos de limpeza e descontaminação testados, raspas de dentina foram coletadas com limas estéreis

de calibre 15 (Maillefer – Dentisply – USA) e, posteriormente, imersas em tubos de ensaio contendo 5ml de meio de cultura BHI estéril.

Na seqüência, as amostras coletadas nos tempos 0, 48 horas, 72 horas e 7 dias foram incubadas a 37° C por 48 horas em estufa, e então analisadas quanto à turvação do meio de cultura BHI em aparelho de espectrofotometria (ULTROSPEC 1000, Amershan Pharmacia Biotech - England) ajustado para leitura em comprimento de onda $\lambda = 600$ nm (nanômetros), adotando-se como padrão a escala de McFarland (Tabela 3 – ANEXO A).

Os dentes utilizados no experimento para obtenção das amostras de raspas de dentina foram armazenados na posição vertical em suporte acondicionado no interior de recipiente vedado e umidificado. O recipiente permaneceu no interior da estufa a uma temperatura de 37°C durante todos os intervalos de tempo da coleta das amostras. Os resultados obtidos foram submetidos a análise estatística e expressos em tabelas.

4.8. Conversão da Escala de McFarland em Padrão de Absorvância

A avaliação da turbidez de uma cultura microbiana constitui um método rápido, embora indireto, de estimar a concentração celular. Um feixe de luz focado numa suspensão microbiana é parcialmente desviado (dispersão da luz) pelas células, e a percentagem de luz não desviada (transmitância, T) é medida por espectrofotômetro. A quantidade de luz que atravessa a suspensão celular depende da concentração de células na suspensão e do tamanho destas, do comprimento de onda e da intensidade da luz incidente (I_0) e do diâmetro do tubo

que contém a suspensão celular. A densidade óptica (D.O.) da cultura corresponde a **Absorvância**, que é determinada com base na expressão $DO = \log (I_0/I)$, onde I_0 é a intensidade da luz incidente e I é a intensidade da luz transmitida através da suspensão de células.

Para conversão da escala nefelométrica de McFarland (Figura 6 - ANEXO B) em padrão de absorvância, foram confeccionadas três escalas pelo mesmo operador e deixadas à temperatura ambiente para leitura em aparelho de espectrofotometria. As escalas foram lidas em espectrofotômetro ULTROSPEC 1000 (Amersham pharmacia biotec- England), calibrado com BHI esterilizado, e ajustado em comprimento de onda $\lambda = 600$ nm. Após anotados os valores das três escalas, foi feita a média aritmética das mesmas para padronização da leitura posterior das amostras (Tabela 4 – ANEXO A).

5- RESULTADOS

Foram obtidas 20 medidas de turvação do meio BHI, nos tempos 0, 48 horas, 72 horas e 7 dias, para cada grupo experimental. As médias da densidade óptica obtidas representam a contaminação remanescente no meio de cultura BHI por cepas de *E. faecalis*.

O teste paramétrico que melhor se adaptou ao modelo experimental foi a Análise de Variância e Teste Tukey para detectar as eventuais diferenças para os dados obtidos nos tempos determinados (0, 48 horas, 72 horas e 7 dias) . Os resultados estão demonstrados nas tabelas 5 a 13 seguintes.

Análise dos Resultados no Tempo Zero

Tabela 5 - Médias da densidade óptica (DO) do meio de cultura BHI contendo raspas de dentina de incisivos humanos contaminados por *E. faecalis* e submetidos à instrumentação mecanizada auxiliada pelas substâncias irrigadoras testadas – análise do tempo zero

<i>Amostra</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
SORO FISIOLÓGICO	20	12,8480	0,6424	0,0051
HCT₂₀	20	4,6670	0,2334	0,0002
CLOREXIDINA 2%	20	0,9130	0,0457	0,0002
HIPOCLORITO 1%	20	0,4400	0,0220	0,0005

Tabela 6 - Diferença mínima significativa entre as médias de DO das substâncias irrigadoras testadas – tempo Zero

<i>Dif. entre médias</i>	SORO FISIOLÓGICO	HCT₂₀	CLOREXIDINA 2%	HIPOCLORITO 1%
SORO FISIOLÓGICO	0,0000	0,4091	0,5968	0,6204
HCT₂₀		0,0000	0,1877	0,2114
CLOREXIDINA 2%			0,0000	0,0237
HIPOCLORITO 1%				0,0000

Como se observa na Tabela 5, a menor média de densidade óptica obtida foi para o hipoclorito de sódio a 1% (0,0220) e a maior foi para o soro fisiológico (0,6424), ou seja, a solução fisiológica foi estatisticamente menos eficaz na redução do número de cepas de *E. faecalis* presentes no interior do canal radicular, e o hipoclorito de sódio mais eficaz do que as outras soluções neste tempo (Figura 1 – ANEXO B).

Foi feito o teste Tuckey que permite estabelecer a diferença mínima significativa entre as médias das substâncias testadas (*dms*). A *dms* calculada foi

de 0,0293. Ao ser comparada com os valores encontrados na Tabela 6, nota-se que só não é menor que a diferença das médias entre clorexidina a 2% e o hipoclorito de sódio a 1%, cujo resultado foi 0,0237. Estes resultados nos permitem dizer que o HCT₂₀ é mais eficaz que o soro fisiológico, a clorexidina a 2% e o hipoclorito de sódio a 1% são mais eficazes que o soro fisiológico e HCT₂₀.

Análise dos Resultados em 48 horas

Tabela 7 - Médias da densidade óptica (DO) do meio de cultura BHI contendo raspas de dentina de incisivos humanos contaminados por *E. faecalis* e submetidos à instrumentação mecanizada auxiliada pelas substâncias irrigadoras testadas – análise do tempo de 48 horas

<i>Amostra</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
SORO FISIOLÓGICO	20	15,6930	0,7847	0,0052
HCT₂₀	20	8,7020	0,4351	0,0035
CLOREXIDINA 2%	20	1,4980	0,0749	0,0000
HIPOCLORITO 1%	20	2,6014	0,1301	0,0743

Tabela 8 - Diferença mínima significativa entre as médias de DO das substâncias irrigadoras testadas – tempo de 48 horas

Dif. entre médias	SORO FISIOLÓGICO	HCT₂₀	CLOREXIDINA 2%	HIPOCLORITO 1%
SORO FISIOLÓGICO	0,0000	0,3496	0,7098	0,6546
HCT₂₀		0,0000	0,3602	0,3050
CLOREXIDINA 2%			0,0000	0,0552
HIPOCLORITO 1%				0,0000

Como se observa na Tabela 7, a menor média de densidade óptica obtida foi para a clorexidina a 2% e a maior foi para o soro fisiológico, ou seja, a clorexidina foi estatisticamente mais eficaz na redução do número de cepas de *E. faecalis* do que as outras substâncias testadas no intervalo de tempo de 48 horas (Figura 2 – ANEXO B).

Foi feito então o teste Tuckey que permite estabelecer a diferença mínima significativa (*dms*). A *dms* calculada foi de 0,1092. Ao ser comparada com os valores encontrados na Tabela 8, nota-se que só não é menor que a diferença das médias entre clorexidina 2% e o hipoclorito de sódio 1%, cujo resultado foi 0,0552. Estes resultados, assim como no tempo zero, nos permitem dizer que o HCT₂₀ é mais eficaz que o soro fisiológico, a clorexidina a 2% eo hipoclorito de sódio a 1% são mais eficaz que o soro e do que o HCT₂₀.

Análise dos Resultados em 72 horas

Tabela 9 - Médias da densidade óptica (DO) do meio de cultura BHI contendo raspas de dentina de incisivos humanos contaminados por *E. faecalis* e submetidos à instrumentação mecanizada auxiliada pelas substâncias irrigadoras testadas – análise do tempo de 72 horas

<i>Amostra</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
SORO FISIOLÓGICO	20	19,5880	0,9794	0,0037
HCT₂₀	20	13,4570	0,6729	0,0047
CLOREXIDINA 2%	20	2,3250	0,1163	0,0137
HIPOCLORITO 1%	20	4,2810	0,2141	0,1718

Tabela 10 - Diferença mínima significativa entre as médias de DO das substâncias irrigadoras testadas - tempo de 72 horas

Dif. entre médias	SORO FISIOLÓGICO	HCT ₂₀	CLOREXIDINA 2%	HIPOCLORITO 1%
SORO FISIOLÓGICO	0,0000	0,3066	0,8632	0,7654
HCT ₂₀		0,0000	0,5566	0,4588
CLOREXIDINA 2%			0,0000	0,0978
HIPOCLORITO 1%				0,0000

Como se observa na Tabela 9, a menor média de densidade óptica obtida foi para o clorexidina a 2% e a maior foi para o soro fisiológico (Figura 3 – ANEXO B).

Foi feito então o teste Tuckey que permite estabelecer a diferença mínima significativa (*dms*). A *dms* calculada foi de 0,1669 que ao ser comparado com os valores encontrados na Tabela 13, nota-se que só não é menor que a diferença das médias entre clorexidina 2% e o hipoclorito de sódio 1%, cujo resultado foi 0,0978. Estes resultados nos permitem dizer, como nos tempos anteriores, que o HCT₂₀ é mais eficaz que o soro fisiológico, a clorexidina a 2% e o hipoclorito de sódio a 1% são mais eficaz que o soro e do que o HCT₂₀.

Análise dos Resultados em 7 dias

Tabela 11 - - Médias da densidade óptica (DO) do meio de cultura BHI contendo rasps de dentina de incisivos humanos contaminados por *E. faecalis* e submetidos à instrumentação mecanizada auxiliada pelas substâncias irrigadoras testadas – análise do tempo de 7 dias

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
SORO FISIOLÓGICO	20	22,4450	1,1223	0,0109
HCT₂₀	20	18,6790	0,9340	0,0065
CLOREXIDINA 2%	20	2,9657	0,1483	0,0199
HIPOCLORITO 1%	20	5,0980	0,2549	0,2259

Tabela 12 - Diferença mínima significativa entre as médias de DO das substâncias irrigadoras testadas - tempo de 7 dias

Dif. entre médias	SORO FISIOLÓGICO	HCT₂₀	CLOREXIDINA 2%	HIPOCLORITO 1%
SORO FISIOLÓGICO	0,0000	0,1883	0,9740	0,8674
HCT₂₀		0,0000	0,7857	0,6791
CLOREXIDINA 2%			0,0000	0,1066
HIPOCLORITO 1%				0,0000

Como se observa na Tabela 11, a menor média de densidade óptica obtida foi para o clorexidina a 2% e a maior foi para o soro fisiológico (Figura 4 – ANEXO B).

Foi feito então o teste Tuckey que permite estabelecer a diferença mínima significativa (*dms*). A *dms* calculada foi de 0,19440. Ao ser comparada com os

valores encontrados na Tabela 12, percebe-se que só não é menor que a diferença das médias entre clorexidina a 2% e o hipoclorito de sódio a 1%, cujo resultado foi 0,1066. Estes resultados nos permitem dizer, como nos tempos anteriores, que o HCT₂₀ é mais eficaz que o soro fisiológico, a clorexidina a 2% e o hipoclorito de sódio a 1% são mais eficaz que o soro e do que o HCT₂₀.

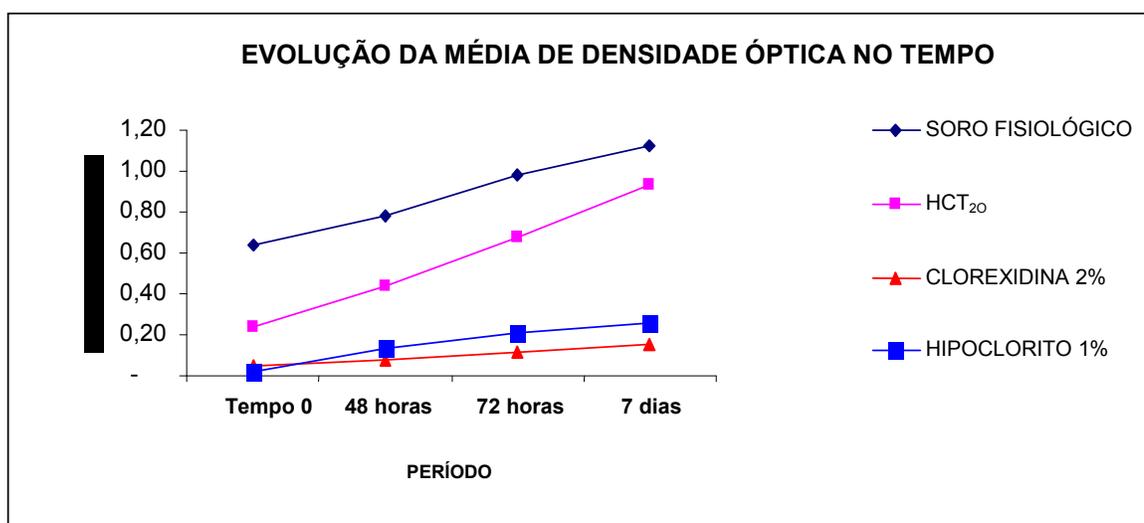
Contudo, ressalta-se que não foi possível estabelecer, em nenhum dos intervalos de tempo, qual foi mais eficiente entre clorexidina a 2% e o hipoclorito de sódio a 1%, tendo em vista que a diferença das médias destas duas substâncias foi sempre menor que a *dms*, significando que não há diferença estatisticamente significativa entre ambas em relação ao poder antimicrobiano quando comparadas com a solução controle.

O $F_{\text{calculado}}$ em todos os intervalos de tempo foi superior ao $F_{\text{crítico}}$ (2,7249) para um nível de significância de 5%. Isto pode ser confirmado pelo *valor-P* que foi de 0,0000, portanto inferior ao nível de significância pré-estabelecido de 5%. Estes dados indicam que as médias de densidade óptica das substâncias testadas apresentam diferenças estatisticamente significativas e, portanto, cada uma das delas têm ação antimicrobiana distinta quando comparadas com a solução controle.

Tabela 13- Evolução da média de densidade óptica (DO) nos intervalos de tempo analisados

PRODUTO	Tempo 0	48 horas	72 horas	7 dias
SORO FISIOLÓGICO	0,6424	0,7847	0,9794	1,1223
HCT ₂₀	0,2334	0,4351	0,6729	0,934
CLOREXIDINA 2%	0,0457	0,0749	0,1163	0,1483
HIPOCLORITO 1%	0,0220	0,1301	0,2141	0,2549

Gráfico 1 - Evolução da média de densidade óptica (DO) nos intervalos de tempo analisados



Cabe ressaltar que embora os testes tenham atestado não haver diferença estatisticamente significativa, entre a clorexidina a 2% e o hipoclorito de sódio a 1%, a diferença das médias entre os dois produtos aumentou com o passar do tempo, conforme Gráfico 1.

6. DISCUSSÃO

6.1. Da Metodologia

O modelo experimental utilizado neste estudo foi adaptado do modelo estabelecido por Ørstavik & Haapasalo (1990) para infecção e desinfecção de túbulos dentinários. No presente estudo, dentes incisivos centrais inferiores de humanos foram utilizados ao invés de dentes bovinos. Essa modificação foi considerada apropriada devido à marcante diferença existente entre o diâmetro e volume da polpa dos canais bovinos e de humanos levando-se em consideração os instrumentos rotatórios do sistema K3-Endo[®] escolhido para o experimento. Além disso, ao contrário do modelo idealizado pelos pesquisadores, nesse experimento não foi removido o *smear layer* para que houvesse uma maior aproximação de uma situação clínica típica.

O forame apical de todos os dentes foi selado com resina epoxy (Araldite[®] – HOBBY – BRASCOLA LTDA.) para que não ocorresse extravasamento da solução irrigadora durante o preparo químico-mecânico e a parte externa das raízes recebeu duas camadas de verniz cavitário (Cavitine – SS White) com o objetivo de prevenir uma possível contaminação da parte externa da raiz pelo *E.*

faecalis, uma vez que Ørstavik & Haapasalo (1990) verificaram que o *E. faecalis* infectou todo o comprimento dos canalículos dentinários em 2 dias e persistiu no interior do canal por no mínimo 10 dias após a retirada dos nutrientes. O procedimento adotado nesse estudo está em acordo com dados encontrados na literatura, nos experimentos com metodologia semelhante (BAUMGARTNER & IBAY, 1987; SIQUEIRA Jr. *et al.*, 2000; BASRANI *et al.*, 2003).

O microrganismo escolhido para ser inoculado no interior dos canais radiculares foi *E. faecalis* (bactéria anaeróbia facultativa) devido à sua reconhecida patogenicidade endodôntica e considerando-se sua resistência a determinados fármacos utilizados como medicação intracanal, incluindo o hidróxido de cálcio. Além disso possui freqüente associação em casos de falha do tratamento endodôntico, uma vez que apresenta resistência inerente a agentes antimicrobianos, fato que se deve à estrutura mais espessa da parede celular das bactérias Gram-positivas. Por meio do desenvolvimento de modelos eficazes na terapêutica endodôntica contra esses microrganismos ele é considerado por vários autores como um microrganismo apropriado para experimentos *in vitro*. O *E. faecalis* apresenta uma cultura relativamente fácil de ser manipulada e utilizada com sucesso em muitos estudos com base no modelo experimental original de Ørstavik & Haapasalo. A escolha baseou-se também em microrganismos estudados em outros experimentos (BYSTRÖM & SUNDQVIST, 1985; ØRSTAVIK & HAAPASALO, 1990; VAHDY *et al.*, 1993; HAAPASALO, 2001; ESTRELA, 2000).

Sundqvist *et al.* (1998) realizaram uma análise microbiológica de 54 dentes com obturação endodôntica e lesão periapical persistente. Os dentes foram

submetidos ao retratamento endodôntico e coletas microbiológicas foram realizadas. A flora microbiana encontrada foi principalmente de uma única espécie e com predominância de bactérias Gram-positivas, sendo o *E. faecalis* a bactéria mais comumente encontrada. Os autores concluíram que a flora microbiana de dentes tratados endodônticamente e com lesão persistente difere da microflora de dentes não submetidos ao tratamento endodôntico.

O tempo de incubação do *E. faecalis* no interior dos canais neste estudo foi de 48 horas, levando-se em consideração o trabalho realizado por Ørstavik & Haapasalo (1990), onde os autores verificaram que o *E. faecalis* em dois dias contaminou todo o comprimento dos canalículos dentinários, enquanto o *P. aeruginosa* raramente foi evidenciado através de microscopia eletrônica de varredura no interior dos canalículos, mesmo após 4 semanas. Cepas de *S. sanguis* necessitaram de até duas semanas para completa infecção e a *E. coli* penetrou até 600 µm depois de prolongado período de incubação. O *E. faecalis* persistiu por no mínimo dez dias depois da retirada dos nutrientes, enquanto os outros microrganismos morreram de quatro a quarenta e oito horas após a retirada de nutrientes.

Vários fatores podem influenciar o crescimento e a colonização microbiana no interior dos canais radiculares, como a disponibilidade de nutrientes, baixa tensão de oxigênio em polpas necróticas e as inter-relações entre microrganismos. Com o selamento do dente após o preparo químico-mecânico, o ambiente anaeróbio é restabelecido e a penetração de fluidos teciduais pode determinar a multiplicação microbiana com conseqüente recontaminação do canal radicular. Devido a isso, a utilização de soluções irrigadoras antissépticas é indicada na

tentativa de controlar a multiplicação microbiana. No entanto, nem todas as soluções irrigadoras são totalmente eficazes, pois não eliminam todas as cepas microbianas uma vez que necessitam estar em contato direto com o microrganismo. Clinicamente isto nem sempre é possível, pois muitas vezes os microrganismos se encontram alojados no interior da massa dentinária. Estudo realizado por Ingle & Zeldow (1958) revelou que a instrumentação auxiliada por água destilada não foi capaz de promover a anti-sepsia dos canais radiculares, havendo necessidade de medicação intracanal por não haver meio clínico de determinar a profundidade de penetração de microrganismos nos túbulos dentinários.

É de consenso geral que uma instrumentação adequada dos canais radiculares é a chave para uma terapia endodôntica de sucesso. Porém, por si só ela não é capaz de eliminar completamente os microrganismos existentes no interior do canal radicular, podendo entretanto causar uma redução temporária no número de microrganismos presentes na luz do canal, fato que leva à necessidade do uso da medicação intracanal antes que o mesmo seja obturado (INGLE & ZELDOW, 1958; BYSTRÖM & SUNDQVIST, 1983). Entretanto, a necessidade de utilização de medicação intracanal não foi objetivo de nosso estudo, sendo verificado apenas a capacidade antimicrobiana de três soluções irrigadoras (hipoclorito de sódio a 1%, solução aquosa de digluconato de clorexidina a 2% e HCT₂₀, adotando-se o soro fisiológico com solução de controle) durante a instrumentação com sistema rotatório K3-Endo[®].

Há mais de 30 anos, SHILDER introduziu o conceito de limpeza e modelagem, sendo a limpeza a remoção de todo conteúdo do sistema de canais

radiculares antes e durante a modelagem. Pode ser bem sucedida com o uso de instrumentos para remover fisicamente os detritos e um sistema de irrigação para remover e dissolver o conteúdo de regiões inacessíveis. A modelagem é o estabelecimento de uma forma específica da cavidade que atende a certos objetivos mecânicos: acesso livre de compactadores, espaçadores ou instrumentos de obturação no interior do canal; limpeza tridimensional e introdução do máximo possível de material obturador. Segundo o autor, os benefícios da irrigação seriam o desbridamento superficial, eliminação de microrganismos, dissolução de tecidos pulpares e remoção do *smear layer* compactados na superfície dos túbulos dentinários.

De acordo com relatos da literatura, outro fator relevante durante o processo de desinfecção dos canais radiculares diz respeito ao calibre da agulha e à quantidade de solução irrigadora utilizada durante a irrigação. Pesquisas sobre o assunto demonstram que quanto mais fino o calibre da agulha, maior facilidade obtida durante a irrigação e a solução irrigadora conseguirá atingir as partes mais profundas da raiz, fazendo com que haja maior eliminação de detritos e restos necróticos contaminados por microrganismos do interior do canal radicular. Além disso, maiores volumes de solução irrigadora devem ser utilizados após cada troca de lima, facilitando a remoção de debris e conteúdo mineralizado formados durante a instrumentação. (DE DEUS, 1976; INGLE & BEVERIDGE, 1981; GOLDMAN *et al.*, 1981; ABOU-RASS & PICCININO, 1982; CHOW, 1983; WALTON & TORABINEJAD, 1987).

Estudos realizados por Abou-Rass & Piccinino (1982) e por Chow (1983) também demonstraram maior eficácia durante o preparo químico-mecânico com

utilização de agulhas de menor calibre. Os resultados de tais experimentos evidenciaram que uma inserção mais próxima do terço apical é conseguida com agulhas de menor calibre, possibilitando uma maior redução no número de microrganismos e maior eliminação dos debris no interior do canal radicular. Desta forma, os autores sugerem o uso de agulhas de pequeno diâmetro (calibre 23 - 25, 27 - 30) para que haja uma maior eficácia durante a irrigação.

O presente estudo está de acordo com relatos obtidos na literatura, sendo que o volume utilizado para cada dente foi no total de 10 ml e a irrigação realizada a cada troca de instrumento com agulha hipodérmica de calibre 30/5 adaptada à seringa Luer de 5 ml.

A etapa correspondente à cultura exige meios ricos em substâncias nutritivas adequadas ao crescimento de microrganismos, em condições atmosféricas ideais. Em relação aos fatores associados ao meio de cultura, pode-se observar que o meio BHI (*Brain Heart Infusion*) suporta as exigências nutritivas para o microrganismo escolhido (*E. faecalis*), e portanto foi empregado para este experimento. No presente estudo, a contagem de microrganismos em meio líquido (leitura) teve como referencial a presença ou ausência de turvação do mesmo, que indicou, ou não, o crescimento e multiplicação de microrganismos. Como as amostras coletadas para essa pesquisa tratavam-se de raspas de dentina contendo agentes com características antimicrobianas, o uso de substâncias neutralizantes foi empregado para minimizar a interferência das soluções irrigadoras após o preparo químico-mecânico que, quando carregadas para o meio de cultura, poderiam promover um resultado falso negativo (ESTRELA *et al.*, 2000; SLOTS & TAUMAN, 1992).

A padronização dos dentes foi feita, sendo os mesmos escolhidos de maneira a apresentar média de comprimento e diâmetro anatômico semelhantes, e dentes com apenas um canal e raízes praticamente retas foram selecionados por meio de verificação radiográfica com vista proximal. O comprimento de trabalho foi fixado 1 milímetro aquém do forame apical. A metodologia empregada permitiu a verificação da diminuição da quantidade de microrganismos inoculados no interior do canal dos dentes utilizados no experimento, por meio da ação dos instrumentos rotatórios K3-Endo[®] e com auxílio das soluções irrigadoras testadas, garantindo a análise desejada.

Muitas alterações têm sido implementadas em virtude da constante busca por melhores preparos, principalmente quanto às técnicas e aos instrumentos utilizados, com ênfase para as técnicas que adotam o sentido cérvico-apical de preparo e instrumentos rotatórios, permitindo maior dilatação do canal, sem contudo promover deformidades na região apical.

Os primeiros instrumentos rotatórios foram *NT Sensor e McXim System*, desenvolvidos por McSpadden em 1996. A partir de então houve uma variação na conicidade, criando-se instrumentos maiores que 0,02 mm/mm. Como conseqüência, apenas uma porção da parte ativa do instrumento entra em contato com a parede dentinária, promovendo um desgaste mais efetivo e com menor risco de fratura, sendo fundamental para o rendimento da técnica empregada. Diferente dos instrumentos convencionais em que o gradiente de conicidade é 0.02, os instrumentos rotatórios aumentam em uma proporção de 0.04, 0.06, 0.08 mm/mm etc. Dessa maneira, o corte na dentina não ocorre na ponta do instrumento em um primeiro instante, e sim em um ponto mais distante e

resistente, ficando a ponta livre e flexível com facilidade de penetração nas curvaturas sem provocar formação de degraus (BERGER, 1997; LOPES *et al.*, 1997; THOPSON & DUMMER, 1997).

Teoricamente um instrumento usado em torque alto é mais ativo, aumentando a eficiência de corte, porém isto pode levar à deformação e fratura do mesmo. A tensão mecânica dos instrumentos Ni-Ti rotatórios é proporcional ao torque. Se o torque utilizado for excedido, pode aumentar o risco de fratura do instrumento dentro do canal. O uso de baixo torque seria, então, a solução. Em canais retos, o alto torque não é clinicamente importante, pois a resistência da dentina removida é baixa. Já em canais curvos e atrésicos, onde a resistência é alta, o torque tem grande importância (GAMBARINI, 2000; YARED ; BOU DAGHER & MACHTOU, 2001).

No presente trabalho utilizamos sistema rotatório K3-Endo[®]. Os instrumentos K3-Endo[®] são fabricados pela Kerr SybroEndo e vendidos em Kit. Têm como característica três superfícies radiais (*radial land*). Como conseqüência, quanto menor a quantidade de metal após a lâmina de corte, menor a resistência do instrumento à tensão rotacional, ângulo de corte positivo resultando em uma ação de corte mais efetiva, ângulo helicoidal variável permitindo ao instrumento “carregar” a dentina excisada para porção coronária com maior eficiência. Sua ponta é inativa e age como um guia mantendo o eixo central da ponta do instrumento no canal, permitindo que o instrumento flexione em grandes curvaturas. Apresenta variação de conicidade dos instrumentos na parte ativa: 0,06 mm/mm (laranja), 0,04 mm/mm (verde), 0,02 mm/mm (rosa), nos comprimentos de 21, 25 e 30 mm.

A técnica empregada no experimento foi de instrumentação no sentido coroa-ápice, sendo que o preparo cervical foi realizado com instrumentos de conicidade 0,10 mm/mm e 0,08 mm/mm e D_0 igual a 0,25 mm, realizando desgaste compensatório. Na seqüência, instrumentos de conicidade 0,06 mm/mm e D_0 variando de 0,20 mm a 0,40 mm foram utilizados em direção apical até atingir o comprimento de trabalho. O batente apical foi confeccionado com instrumento 25x0,06, ou seja, conicidade 0,06 mm/mm e $D_0 = 0,25$ mm.

Durante a execução das técnicas rotatórias, nota-se que o uso dos instrumentos exige um bom treinamento, pois sua ação é limitada a movimentos suaves de vaivém sem pressão apical. Com relação ao número de vezes de uso dos instrumentos durante o preparo químico-mecânico, no presente estudo, eles foram descartados após a décima vez de uso, pois estudos comprovam que quanto mais utilizados, menor se torna a capacidade de corte e, conseqüentemente, menor a limpeza. Além disso a fratura dos instrumentos rotatórios de Ni-Ti é causada pela sobrecarga durante a instrumentação, bem como fadiga significativa na liga metálica após um número excessivo de ciclos. A sobrecarga pode ser causada pelas irregularidades da dentina que se prendem nas ranhuras do instrumento ou pela tensão de torção, causando estiramento (deformação) no instrumento. Isso ocorre quando há um travamento inadvertido da lima nas paredes dentinárias (AUN *et al.*, 1990; ALAPATI *et al.*, 2005).

Patinõ *et al.* (2005) realizaram experimento *in vitro* com limas rotatórias K3-Endo[®] (Kerr Europe, Herts, uk) de calibre 0,06 mm/mm e conicidade 0,25 mm em curvaturas de 33°. As limas foram utilizadas a 350 rpm em canais irrigados com hipoclorito de sódio a 5,25% e só fraturaram após 10 vezes de uso repetido. A

mesma lima utilizada em canais com curvatura de 38° foi utilizada até 14 vezes antes que ocorresse fratura. A análise estatística do referido estudo mostrou que a fratura está associada ao ângulo de curvatura dos canais e ao número de utilização do instrumento no interior do canal.

Estudo realizado por Yared *et al.* (2004) analisou a correlação entre o calibre das limas de conicidade 0,06 mm/mm e torque de fratura de instrumentos novos e usados. Os autores verificaram que quanto mais calibrosos forem os instrumentos, maior o torque de fratura quando comparados com instrumentos de menor calibre. Além disso, os instrumentos mais usados apresentaram menor torque de fratura do que os novos. Conseqüentemente, o uso repetido dos instrumentos reduziu significativamente o torque e o ângulo de rotação na fratura.

Um grande número de microrganismos está presente em canais infectados, e a presença destes no sistema de canais radiculares representa um importante desafio na terapia endodôntica (MOORER & WESSELINK, 1982). Substâncias auxiliares se tornam necessárias para que haja remoção da microbiota em áreas inacessíveis aos instrumentos endodônticos (GROSSMAN & MEIMAN, 1941).

Com relação às substâncias irrigadoras auxiliares no preparo químico-mecânico no presente estudo, utilizamos como critério para escolha da solução de Hipoclorito de Sódio o fato de ser a solução, ainda hoje, a mais empregada pelos endodontistas e a mais freqüentemente testada. O Hipoclorito de Sódio, nas mais diferentes concentrações, vem sendo utilizado na endodontia há mais de 70 anos devido à sua capacidade de dissolução de tecidos, ao seu grande potencial antimicrobiano, ação lubrificante e baixa tensão superficial (BYSTRÖM &

SUNDQVIST, 1983; LEONARDO & LEAL, 1991; ESTRELA *et al.*, 1999; SOARES *et al.*, 2001).

Neste experimento, a concentração escolhida para a solução de Hipoclorito de Sódio foi de 1% (Solução de Milton), pois estudos revelam que se trata de uma solução estável dentro do prazo de validade (dois anos). Soluções de hipoclorito de sódio com pH mais elevado, em torno de 11 e 12, são mais estáveis e a liberação de cloro é mais lenta. À medida que se reduz o pH da solução, seja por meio de ácido bórico (Líquido de Dakin) ou do bicarbonato de sódio (Solução de Dausfrene), a solução fica muito instável e a perda de cloro é mais rápida. Isto significa que o tempo de vida útil da solução é pequeno. Além disso, quando uma solução de hipoclorito de sódio apresenta teor de cloro menor que 0,3% ela não é efetiva contra *C. albicans* e *E. faecalis* e na concentração de 0,5% ela é efetiva somente à partir de um tempo mínimo de ação de 15 minutos. Desse modo, vale ressaltar a importância de conhecer a concentração do hipoclorito de sódio que se vai utilizar na terapêutica endodôntica para se obter as reais vantagens que essa solução pode oferecer na anti-sepsia do sistema de canais radiculares (MILANO *et al.*, 1991; PÉCORA, 2001).

A escolha da solução de Hipoclorito de Sódio a 1% baseou-se também no fato de que, em baixas concentrações, a solução apresenta menor efeito nocivo aos tecidos da região apical. Vários autores mostram que o hipoclorito de sódio não apresentou efeitos nocivos aos tecidos dessa região quando usados em concentrações menores que 5%, mesmo quando não foi removido do canal após a irrigação (SPANGBERG *et al.*, 1973; BYSTRÖM & SUNDQVIST, 1983; ANDERSEN *et al.*, 1992; SIQUEIRA Jr. *et al.*, 2000).

Baumgartner & Cuenin (1992) demonstraram que a solução de Hipoclorito de Sódio nas concentrações de 1%, 2,5% e 5,25% foram capazes de remover completamente os remanescentes pulpares e a dentina circumpulpar de paredes dentinárias em apenas uma instrumentação. Além disso, na concentração de 1%, o hipoclorito de sódio manteve suas propriedades antimicrobiana e de dissolução de tecidos.

A clorexidina é agente antimicrobiano comum em Periodontia, e seu uso vem sendo sugerido recentemente na Endodontia como solução auxiliar no preparo de canais radiculares. Sua escolha para este experimento baseou-se em sua atividade antimicrobiana de amplo espectro e em seu efeito residual, isto é, sua capacidade de se ligar à hidroxiapatita do esmalte ou dentina e a grupos aniônicos ácidos de glicoproteínas, sendo lentamente liberada à medida que sua concentração no meio decresce. Essa característica confere à solução de clorexidina um tempo de ação prolongado. Devido a tais propriedades em associação com seu baixo efeito citotóxico, o uso da clorexidina na terapia endodôntica tem sido preconizado como medicação intracanal ou no preparo químico-mecânico dos canais radiculares (VAHDATY *et al.*, 1993; LOPES & SIQUEIRA Jr., 1999; LIN *et al.*, 2003; SASSONE *et al.*, 2003; WUERCH *et al.*, 2004).

Idealizada inicialmente para o combate à malária, a clorexidina tornou-se difundida na Odontologia em função do seu efeito antimicrobiano, baixa toxicidade e forte afinidade com estruturas da pele e mucosas. A clorexidina apresenta-se incolor, inodora e na forma aquosa possui maior estabilidade. Age por meio de

ação eletrostática entre seus cátions e a carga negativa das células bacterianas (FERNANDES, 2000; WALTIMO, 2000).

Vaughan & Garnik (1989) avaliaram a tolerância tecidual à clorexidina em pacientes submetidos a bochechos diários de solução alcoólica a 0,125% após cirurgia periodontal. Os autores verificaram que os pacientes apresentaram um reparo mais rápido e com grau de inflamação significativamente menor, com a utilização de menor quantidade de analgésico.

Neste estudo utilizamos clorexidina a 2% em solução aquosa, pois de acordo com relatos da literatura, em altas concentrações seu efeito é bactericida, provocando coagulação e precipitação de proteínas, ao passo que em baixas concentrações seu efeito é bacteriostático. A formulação em solução aquosa ao invés de gel, confere a essa substância maior capacidade de escoamento, atingindo rapidamente as porções mais profundas dos canais radiculares (LOPES & SIQUEIRA JR., 1999; SOUZA FILHO, 2002; ZAMANY *et al.*, 2003; BASRANI *et al.*, 2003; VIANNA *et al.*, 2004).

A escolha do HCT₂₀, no presente estudo, baseia-se no fato de ser a solução irrigadora utilizada na disciplina de Endodontia do curso de Odontologia da Universidade de Brasília – UnB, desde 1987, quando desenvolvida por Barbosa e Almeida. É uma associação entre a solução aquosa de Hidróxido de Cálcio a 0,2% e Tergensol, que foi adicionado à fórmula com intuito de diminuir a tensão superficial da solução. Analisando seu efeito antimicrobiano, os autores verificaram que essa associação inibiu o crescimento de 90,9% das cepas bacterianas analisadas em contato direto por períodos superiores a 10 minutos. Concluíram ainda que, em virtude das condições oferecidas, como baixa tensão

superficial, pH elevado e atividade antimicrobiana, essa associação seria indicada para o tratamento de polpas necrosadas e infectadas.

6.2- Dos Resultados

Os resultados obtidos pela análise de variância permitiram a comparação entre as soluções irrigadoras utilizadas durante o preparo de canais radiculares com instrumentação mecanizada, confirmando com isso a necessidade da utilização de uma solução irrigadora com poder antimicrobiano, durante o preparo dos canais radiculares, para que possa obter o máximo da ação anti-séptica.

A análise dos dados obtidos no Gráfico 1, mostra uma ordem crescente da quantidade de microrganismos remanescentes no interior dos canais radiculares (pela turvação do meio de cultura), nos grupos irrigados com solução aquosa de clorexidina a 2%, solução de hipoclorito de sódio a 1%, HCT₂₀ e solução fisiológica, sendo que o maior crescimento microbiano foi verificado na curva da solução fisiológica seguido do HCT₂₀.

Pode-se verificar que não houve diferença significativa entre a ação das soluções de hipoclorito de sódio a 1% e clorexidina aquosa a 2%. Entretanto, ambas foram significativamente mais eficazes do que o soro fisiológico e do que o HCT₂₀ na redução do número de microrganismos presentes no interior dos canais radiculares contaminados, e o HCT₂₀ foi mais eficaz do que o soro fisiológico. Além disso, a solução de clorexidina a 2%, apresentou redução

inicial no número de microrganismos menor do que o hipoclorito de sódio a 1%, e obteve as menores médias de crescimento bacteriano nos tempos de 48 horas, 72 horas e 7 dias após o preparo químico-mecânico ($p < 0,05$). Este fato pode estar relacionado com sua ação residual no interior dos canais radiculares, mesmo após a neutralização da mesma, devido à sua forte ligação às estruturas mineralizadas do esmalte e dentina.

De uma maneira geral, nossos resultados puderam demonstrar que as três soluções testadas foram capazes de reduzir o número de microrganismos presentes no interior dos canais radiculares, embora o HCT₂₀ tenha sido bem menos eficaz do que as outras duas soluções. Além disso, observamos que nenhuma das três soluções foi capaz de remover totalmente a quantidade de microrganismos presentes no interior dos canais, e que embora as soluções de clorexidina e hipoclorito tenham, a princípio, reduzido significativamente o número de microrganismos presentes na luz do canal no primeiro tempo analisado (tempo zero), houve um aumento, ainda que pequeno, de microrganismos nos tempos seguintes (48 hs, 72 hs e 7 dias).

Em nosso estudo, foram utilizados ,ainda, cinco dentes esterilizados e não contaminados por *E. faecalis* que serviram como controle negativo, e cinco dentes contaminados com cepas de *E. faecalis* e que não foram irrigados e nem instrumentados que serviram como controle positivo. Amostras de raspas de dentina desses dentes foram colhidas e colocadas dentro de tubos de ensaio contendo meio de cultura BHI estéril e armazenadas em estufa a uma temperatura de 37°C. Ressalta-se que, nos tubos contendo amostra dos dentes

não contaminados , o meio de cultura permaneceu estéril até o final do experimento, sendo que a leitura da densidade óptica, correspondente ao número de microrganismos presentes no meio, foi equivalente ao tubo nº 0 da escala de McFarland em todos os tempos analisados. Já nos tubos contendo amostra dos dentes contaminados, o número de microrganismos foi superior ao tubo nº 2 em todos os intervalos de tempo analisados. Esses dados serviram apenas de parâmetro para testes preliminares, não fazendo parte da análise estatística de nosso trabalho.

Barbosa & Almeida (1987) verificaram *in vitro*, que o HCT₂₀ mostrou-se como solução anti-séptica, sendo o Difteróide o único microrganismo sobrevivente após um período de 10 minutos. Os achados obtidos pelos autores não estão em acordo com o presente estudo, uma vez que o HCT₂₀ permaneceu em contato com o microrganismo testado (*E. faecalis*) por um tempo mínimo de 15 minutos (tempo aproximado da instrumentação mecanizada), não sendo capaz de eliminar um número significativo de cepas bacterianas do interior do canal, mesmo no primeiro intervalo de tempo analisado (tempo zero), logo após a instrumentação.

Barbosa *et al.* (1994) avaliaram a ação antimicrobiana do HCT₂₀ quando em contato direto com microrganismos. Os autores verificaram que a baixa tensão superficial associada ao elevado pH, conferiram à essa solução maior efetividade antimicrobiana em relação à solução de hidróxido de cálcio.

Entretanto, os dados originais da pesquisa não mencionou o número de microrganismos utilizados nas amostras, informação imprescindível para

análise proporcional entre microrganismos e volume da solução utilizada. Neste aspecto pode-se observar que o volume utilizado das soluções testadas excede muito do volume que caberia em um canal radicular. Outro fator que merece destaque na metodologia é que as amostras microbianas foram colocadas no interior de tubos de ensaio contendo as soluções antimicrobianas, em condições estáticas, isto é, sem fluxo e sem renovação, comportando-se como medicação antimicrobiana e não como solução irrigadora. Talvez estes detalhes metodológicos possam ter proporcionado resultados diferentes dos encontrados neste experimento.

No presente estudo, no entanto, o HCT₂₀ não apresentou ação antimicrobiana satisfatória quando comparado com as soluções de clorexidina e hipoclorito de sódio, em nenhum dos intervalos de tempo analisados. Esse fato pode estar relacionado com a necessidade de contato direto do hidróxido de cálcio presente no HCT₂₀ (FAVA & SAUNDERS, 1999).

Estrela *et al.* (1999) verificaram *in vitro* que o hidróxido de cálcio não apresentou atividade antimicrobiana nos túbulos dentinários infectados com *S. faecalis*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* e com mistura destes microrganismos utilizados durante o experimento. Os dados obtidos mostram que o hidróxido de cálcio não foi eficaz à distância (ação indireta), mesmo após 7 dias de permanência no interior do canal radicular. A quantidade de íons hidroxila liberados pelo hidróxido de cálcio em 7 dias não afetou a integridade da membrana citoplasmática dos microrganismos, não causando desta forma a destruição dos mesmos. Os resultados obtidos estão de acordo com a hipótese

estabelecida pelos autores em 1995, que relataram a possibilidade do hidróxido de cálcio ser capaz de produzir inativação enzimática bacteriana reversível e irreversível, sendo a inativação irreversível obtida em condições de pH elevado e após longos períodos de tempo, provocando redução na atividade biológica da membrana citoplasmática. A inativação reversível pode ser observada quando o pH não se apresenta elevado o bastante, retornando a um nível considerado favorável para que haja crescimento microbiano.

O Hipoclorito de Sódio em várias concentrações é ainda hoje a solução auxiliar mais utilizada em Endodontia. Porém, estudos revelam sua toxicidade em células humanas, sugerindo que o uso dessa solução a 5% pode ser nocivo durante a prática endodôntica. Para que se obtenha níveis aceitáveis de citotoxicidade e poder antimicrobiano, o hipoclorito de sódio a 0,5% passou a ser recomendado como solução irrigadora. Em nosso estudo escolhemos a concentração a 1%, por ser mais estável e apresentar baixo grau de toxicidade aos tecidos vivos (SPANGBERG *et al.*, 1973; ESTRELA *et al.*, 2002; SASSONE *et al.*, 2003).

Byström *et al.* (1983) verificaram *in vivo* a ação do hipoclorito de sódio a 0,5% em 30 dentes unirradiculares. Os dentes foram divididos em dois grupos e cada dente foi tratado em 5 sessões, sendo a presença de microrganismos avaliada em cada sessão. Nenhuma medicação intracanal foi utilizada no experimento. Os resultados mostraram que, em 12 de 15 dentes irrigados com hipoclorito a 0,5%, não houve permanência de bactérias no interior do canal

após a quinta sessão do preparo químico-mecânico. Nos dentes tratados com solução salina, 7 permaneceram contaminados após a quinta sessão do tratamento endodôntico, sugerindo maior eficácia da solução de hipoclorito na anti-sepsia de canais radiculares.

Byström & Sundqvist (1985) realizaram estudo *in vivo* sobre o efeito antimicrobiano da solução de hipoclorito de sódio a 5% e a 0,5%. Os resultados revelaram não haver diferença entre as duas concentrações da mesma solução. Contudo, os autores ressaltam que os microrganismos são capazes de sobreviver à ação da instrumentação e irrigação, e que um rápido decréscimo no número de microrganismos foi obtido quando se utilizou medicação intracanal entre as sessões. Em estudo prévio (1981), os autores verificaram redução significativa no número de microrganismos por meio da instrumentação mecanizada e irrigação com solução salina, porém metade dos casos apresentou presença de bactérias após quatro sessões de tratamento, levando os autores a concluírem sobre a necessidade da ação de substâncias com poder antimicrobiano para determinação do sucesso do tratamento endodôntico. Esses achados estão de acordo com os obtidos no presente estudo, que mostrou a ineficácia da solução controle (soro fisiológico) em reduzir o número de microrganismos presentes no interior do canal.

Jeansonne & White (1994) verificaram *in vitro* a ação da solução aquosa de clorexidina a 2% e hipoclorito de sódio a 5,25%, utilizando dentes humanos recentemente extraídos. Os resultados mostraram que ambas as soluções foram eficazes na redução do número de microrganismos após o preparo

químico-mecânico quando comparadas com a solução salina. Os resultados obtidos, também revelaram que a formação de culturas positivas após a irrigação com a clorexidina foi menor do que a obtida com o uso do hipoclorito de sódio. Esses dados estão em acordo com os achados do experimento realizado por Heling & Chandler (1998), que verificaram a semelhança da ação das soluções de clorexidina e Hipoclorito de Sódio durante um período de 10 minutos, estando também em acordo com os resultados obtidos em nosso experimento.

Ainda em 1994, Rivera *et al.* compararam *in vitro*, a capacidade de limpeza de quatro soluções irrigadoras. Os autores utilizaram 25 dentes humanos unirradulares, que foram instrumentados e irrigados com as seguintes soluções: Dehyquart A a 1%; Cloreto cetil piridino a 0,1%; Lauril sulfato de sódio a 0,1% e Lauril dietileno glicol éter sulfato de sódio a 0,1% em comparação com o Líquido de Dakin. Os resultados evidenciaram que o Líquido de Dakin foi mais eficaz na remoção de “debris” do terço apical dos dentes quando comparado com os tensoativos aniônicos e catiônicos. Os dados encontrados em nosso experimento estão de acordo com os achados dos autores, pois revelam a superioridade da ação das soluções de hipoclorito em relação aos detergentes.

Siqueira Jr. *et al.* (1997) avaliaram *in vitro* a eficácia da solução de hipoclorito de sódio na eliminação do *E. faecalis* de canais radiculares contaminados e tratados de três formas distintas: irrigação com 2 ml de solução de NaOCl agitado por instrumentos manuais; irrigação com 2 ml de NaOCl

agitado por aparelho de ultra-som; irrigação com 2 ml de NaOCl alternado com peróxido de hidrogênio. Cones de papel absorvente foram usados para coleta das amostras, que foram depositadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura BHI. A análise foi feita pela presença ou ausência de turvação do meio, indicando o crescimento bacteriano. Os resultados não mostraram diferença estatística entre os grupos. Entretanto, a solução de hipoclorito de sódio nos três métodos utilizados foi significativamente mais eficaz do que a solução salina, dados que estão em acordo com nosso estudo.

Kuruvilla & Kamath (1998) verificaram *in vivo* a atividade antimicrobiana das soluções de clorexidina a 0,2% e hipoclorito de sódio a 2,5% separadamente e associados. Os resultados revelaram que o uso das soluções em associação foi capaz de produzir maior redução no número de microrganismos após a irrigação. Essa redução foi significativa quando comparada com a irrigação das soluções separadamente.

Dados da literatura revelam que a solução de hipoclorito de sódio, em diversas concentrações, mostrou-se mais eficaz contra cepas de *E. faecalis* do que a solução salina. Sua utilização em concentrações menores deve ser preferida, uma vez que em baixas concentrações essa solução revela menor potencial irritativo aos tecidos periapicais. Além disso, quando empregado em maiores volumes, o NaOCl mantém o efeito antimicrobiano desejado, mesmo quando utilizado em baixas concentrações. Esse fator foi levado em consideração em nosso experimento (BAUMGARTNER & CUENIN, 1992; SIQUEIRA JR. *et al.*, 2000).

Santos & Sampaio (2001) avaliou o efeito hemolítico e hemoglobinolítico de sete soluções irrigadoras auxiliares no preparo químico-mecânico de canais radiculares, por meio da diluição em soro fisiológico. Foram testadas as seguintes soluções: hidróxido de cálcio a 0,2% (água de cal); Tergentol, associação de Tergentol e água de cal; líquido de Dakin; solução de Milton; solução de Labarraque e soda clorada. Os resultados obtidos demonstraram que: o tipo e a concentração das soluções são fatores determinantes do potencial citotóxico das mesmas, a adição de um tensoativo na solução de hidróxido de cálcio (HCT₂₀) baixa consideravelmente seu potencial citotóxico, o Tergentol é um agente hemolítico sem ação sobre a hemoglobina e que as soluções de hipoclorito de sódio são altamente citotóxicas, mesmo em baixas concentrações.

No presente estudo foi considerado, para a escolha da concentração da solução de hipoclorito de sódio, o trabalho de Estrela *et al.* (2002) que apresenta a solução de hipoclorito de sódio com alta tensão superficial (75 dyn/cm) e concentração inibitória mínima menor que 1% para microrganismos resistentes (*S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans*). O aumento de sua concentração é diretamente proporcional à sua capacidade antimicrobiana e de dissolução de tecidos, e inversamente proporcional à sua biocompatibilidade. Considerando que sua ação antimicrobiana pode ser obtida em baixas concentrações, a melhor opção é a utilização dessa solução a 1%.

Sassone *et al.* (2003) analisaram *in vitro* a ação antimicrobiana da solução de hipoclorito de sódio (1% e 5%) e solução de clorexidina (0,12%,

0,5% e 1%) contra cepas de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. gingivalis* e *F. nucleatum* nos intervalos de tempo de 5 min, 15 min e 30 min após 10 vezes de contato repetido. Os resultados do teste de exposição direta mostraram que a clorexidina a 0,12% não foi eficaz contra cepas de *E. faecalis* em nenhum dos intervalos de tempo. No entanto, solução de clorexidina a 1% e a solução de hipoclorito de sódio a 1% e 5% foram eficazes contra todas as cepas microbianas independente do tempo de contato.

Zamany *et al.* (2003) avaliaram *in vivo* o efeito da solução de clorexidina a 2% em 24 dentes com necrose pulpar e reabsorção óssea apical. Os casos foram tratados de forma convencional e irrigados com solução de hipoclorito de sódio a 1%. Metade dos dentes (grupo testado) recebeu, ainda, irrigação adicional de solução de clorexidina a 2% e a outra metade (grupo controle) recebeu irrigação adicional de solução salina. Amostras foram colhidas dos dois grupos e incubadas por um período de 4 semanas. Os resultados revelaram a presença de microrganismos em 1 dos 12 dentes tratados com solução de clorexidina a 2%, e no grupo controle, 7 dos 12 dentes analisados apresentaram presença de microrganismos após o preparo químico-mecânico. Esses dados estão em acordo com este experimento, que também revelou a significativa superioridade da solução de clorexidina a 2% em relação à solução de soro fisiológico.

Basrani *et al.* (2003) avaliaram *in vitro* a eficácia da clorexidina e do hidróxido de cálcio contra cepas de *E. faecalis*. Os autores realizaram teste de difusão em ágar e análise em dentes humanos extraídos inoculados com o

microrganismo escolhido. Por meio dos resultados obtidos, os autores verificaram que a clorexidina foi mais eficaz do que o hidróxido de cálcio em ambos os testes, e que no teste de difusão em ágar, o hidróxido de cálcio não apresentou poder antimicrobiano. Esses achados também estão de acordo com os encontrados em nosso estudo, que mostrou a superioridade antimicrobiana da clorexidina em relação à solução contendo hidróxido de cálcio.

Gomes *et al.* (2003) avaliaram *in vitro* o efeito antimicrobiano do gel de clorexidina a 2% e da pasta de hidróxido de cálcio, utilizados como medicação intracanal, contra cepas de *E. faecalis*. Os autores verificaram que o gel de clorexidina a 2% foi mais efetivo contra o *E. faecalis* do que a pasta de hidróxido de cálcio ($p < 0.05$), confirmando a maior eficácia da clorexidina em relação ao hidróxido de cálcio. Esses dados estão de acordo com os obtidos por Schäfer & Bössmann (2005), que verificaram maior efeito antimicrobiano da clorexidina contra *E. faecalis*, quando comparada ao hidróxido de cálcio ($p < 0.05$).

Estrela *et al.* (2003) analisaram o efeito antimicrobiano da clorexidina a 2% e do hipoclorito de sódio a 2%, por meio de dois métodos (difusão em ágar e exposição direta) contra cepas de *S. aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis* e uma mistura destes microrganismos. Os resultados obtidos mostraram melhor efeito da clorexidina no teste de difusão em ágar e do hipoclorito de sódio no teste de exposição direta. Com isso, os autores ressaltam que, a magnitude do efeito antimicrobiano pode ser influenciada pelo método experimental, tipo de microrganismos e tempo de exposição,

ênfatizando a importância de testar as substâncias auxiliares na dinâmica da instrumentação dos canais (pesquisa *in vitro*), produzindo resultados mais próximos dos encontrados na clínica.

Vianna *et al.* (2004) verificaram *in vitro* o efeito antimicrobiano da clorexidina (0.2%, 1% e 2%) e do hipoclorito de sódio (0.5%, 1%, 2.5%, 4% e 5.25%) contra cepas de *S. aureus*, *E. faecalis*, *C. albicans*, *P. endodontalis*, *P. gingivalis* e *P. intermedia*. Os resultados revelaram que tanto a clorexidina a 2% (gel ou aquosa), quanto o hipoclorito de sódio a 5.25%, tiveram efeito semelhante contra os microrganismos testados. Esses achados estão de acordo com os obtidos por Jeansonne & White (1994) e Gomes *et al.* (2001). Entretanto, de acordo com Tanomaru Filho *et al.* (2002) e Ercan *et al.* (2004), a clorexidina é menos tóxica do que o hipoclorito de sódio, fato que deve ser levado em consideração na hora da escolha da solução química auxiliar no preparo dos canais radiculares.

Os resultados encontrados em nosso experimento, indicaram que as soluções de hipoclorito de sódio a 1% e digluconato de clorexidina a 2% apresentaram os melhores desempenhos na redução do número de microrganismos presentes no interior dos canais quando comparadas ao HCT₂₀ e ao soro fisiológico ($p < 0,05$).

No grupo controle, irrigado com soro fisiológico, houve um decréscimo no número de microrganismos presentes no interior do canal, no tempo zero do experimento. Nos tempos observacionais seguintes, o crescimento microbiano foi evidente e significativo. Tal fato pode ser explicado pela ação do fluxo e

refluxo da solução e pela ação dos instrumentos rotatórios na remoção de “debris” do interior do canal, promovendo uma redução inicial dos microrganismos na luz do canal, que voltaram a se multiplicar com o passar do tempo.

Verifica-se que a instrumentação mecanizada, por si só, auxiliada pela solução sem poder antimicrobiano, foi capaz de reduzir inicialmente o número de microrganismos presentes no interior do canal radicular, porém não conseguiu manter esta redução ao longo do experimento. Essa verificação está em acordo com relatos encontrados na literatura existente, Ingle & Zeldow, 1958; Byström & Sundqvist, 1983; Siqueira Jr. *et al.*, 1997, demonstrando que ainda não dispomos de procedimentos e materiais auxiliares para limpeza e anti-sepsia ideais, que preencham todos os objetivos almejados durante a biomecânica do tratamento endodôntico, principalmente nos casos de necrose pulpar, onde a contaminação é extrema e intensa, necessitando portanto de soluções com alto poder antimicrobiano e baixa toxicidade.

7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, pode-se afirmar que:

a - A clorexidina aquosa a 2% apresentou a menor média de densidade óptica (DO) nos intervalos de tempo de 48 horas, 72 horas e 7 dias, ou seja, maior eficácia antimicrobiana contra cepas de *E. faecalis* em relação às demais substâncias testadas.

b - O hipoclorito de sódio a 1% e a clorexidina aquosa a 2% mostraram-se estatisticamente mais eficaz contra o *E. faecalis* do que o HCT₂₀ e soro fisiológico em todos os intervalos de tempo analisados.

c - O HCT₂₀ foi estatisticamente mais eficaz na redução de microrganismos do interior dois canais radiculares que o soro fisiológico em todos os intervalos de tempo analisados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOU-RAS, M.; PICCININO, M.V. The effectiveness of four clinical irrigation methods on the removal of root canal debris. **Oral Surg.**, v. 54, n. 3, p. 223-8. Sep., 1982.

ABOU-RAS, M.; OGLESBY, S.W. The effects of temperature, concentration and tissue type on the solvent ability of sodium hypochlorite. **J. Endod.**, v.7, p. 376-7, 1981.

ALAPATI, S.B. *et al.* SEM Observations of Nickel-Titanium Rotary Endodontics Instruments that Fractured During Clinical Use. **J. Endod.**, v. 31, n. 1, p. 40-3, Jan., 2005.

ALLISON, D.A. ; WEBER, C.R.; WALTON, R.E. The influence of the method of canal preparation on the quality of the apical and coronal obturation. **J. Endod.**, v. 5, n. 10, p. 298-304, Oct. 1979.

ANDERSEN, M.; LUND, A.; ANDREASEN, J.O.; ANDREASEN, F.M. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium-hypochlorite. **J. Endod.**, v. 1/2, n. 3, p. 104-8, 1992.

AUN, C.E. **Análise *in vitro*, através da microscopia eletrônica de varredura, da quantidade de canalículos dentinários livres da camada residual de magma no terço apical do canal radicular, após preparo químico-mecânico, variando-se o instrumento e seu número de uso.** (Tese Livre-Docência). São Paulo (SP)- Faculdade de Odontologia da USP, 1990.

BADAN, M. **Oxigenargentoterapia.** 2. ed. São Paulo: Linotipia da casa Cardona, 1952. 126 p.

BAKER, N.A. *et al.* Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. **J. Endod.**, v.1, n. 4, p. 127-35, 1975.

BAMMANN, L.L.; ESTRELA, C. Aspectos microbiológicos em Endodontia. In: ESTRELA, C.; FIGUEIREDO, J.A.P. **Endodontia: princípios biológicos e mecânicos**, São Paulo: Artes Médicas, 1999. P. 168- 189.

BARBOSA, S. V. ; ALMEIDA, D. HCT₂₀ –Uma solução irrigadora para canais radiculares humanos. Análise “*in vitro*”. **Rev. Bras. Odont.**, v.44, n. 5, p.21-28, set./out., 1987.

BARBOSA, S. V *et al.* Low surface tension calcium hydroxide solution is na effective antiseptic. *Int Endod J.*, v.27, p. 6-10, 1994.

- BASRANI, B. *et al.* Efficacy of chlorhexidine- and calcium hydroxide- containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v. 96, p. 618-624, Feb., 2003.
- BAUMGARTNER, J.C; CUENIN, P.R. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. **J. Endod.**, v. 18, n.12, p. 605-12, Dec., 1992.
- BAUMGARTNER, J.C.; IBAY, A.C. The chemical of irrigants used for root canal debridament. **J. Endod.**, v.13, n. 2, p. 47-51, Feb., 1987.
- BERGER, C. R. Instrumentos endodônticos de conicidade gradual: nova proposta para o preparo escalonado dos canais radiculares. **J. Bras. Odontol. Clin.**, v.1, n. 5, p.53-6, set.-out., 1997.
- BEVILACQUA, C. Clorexidina. Usos, Dosis. **Rev. Asoc. Odontol. Argent.** V. 88, n.2, p.175-178, mar./abr., 2000.
- BERRY, K.A. *et al.* Nickel-titanium versus stainless-steel finger spreaders in curved canals. **J. Endod.**, v.24, p. 752-4, 1998.
- BLUM, J.Y. *et al.* Analysis of forces developed during mechanical preperation of extracted teeth using Profile NiTi rotary instruments. **Int. Endod. J.**, v.32, n.1, p. 24-31, 1999.
- BOYDE, A. *et al.* Advances in flourine research and dental caries prevention. Na assessment of two new physical methods applied to the study of dental tissues. **Oxford: Pergamon Press**, v. 1, p. 185-193, 1963.
- BRAMANTE, C.M.; BERBERT, A.; BORGES, R.P. A methodology for evaluation of root canal instrumentation. **J. Endod.**, v. 13, n. 5, p. 243-5, May, 1987.
- BYSTRÖM, A., SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, V.55, n.3, p.307-12. Mar., 1983.
- BYSTRÖM, A., SUNDQVIST, G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. **Int. Endod. J.**, v. 18, p. 35-40, 1985.
- CALLAHAN, J. R. Rosin Solution for the Sealing of the Dentinal Tubuli and as Adjuvant in the Filling of Root-Canals. **Dent. Cosmos**, v. 56, p. 1376, Mar., 1914.
- CAMPS, J.J.; PERTOT, W.J. Machining efficiency of nickel-titanium K-type files in a linear motion. **Int. Endod. J.**, v.28, p.279-84, 1995.
- CHOW, E.; TROPE, M.; NISSAN, R. In vitro endotoxin penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. **J. Endod.**, v.19, p. 187, 1993.

CLEM, W. H. Endodontics: the adolescent patient. **Dent. Clin. N. Amer.**, v.13, n. 2, p. 483-93, Apr. 1969.

COFFAE, K.P.; BRILLIANT, J.D. The effect of serial preparation versus nonserial preparation on tissue removal in the root canals of extracted mandibular human molars. **J. Endod.**, v. 1, n. 6, p. 211-4, Jun, 1975.

DAUGHERTY, D.W.; GOUND, T.G.; COMER, T.L. Comparison of fracture rate, deformation and efficiency between rotary endodontic instruments driven at 150 rpm and 350 rpm. **J. Endod.**, v. 27, p. 95-6, 2001.

DE DEUS, Q. D. **Endodontia**. 2 ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 1976

DE DEUS, Q. D. **Endodontia** . 5 ed. MEDSI Editora Médica e Científica. Rio de Janeiro, 1992.

DIETZ, D.B. *et al.* Effect of rotational speed on the breakage of nickel-titanium rotary files. **J. Endod.**, v. 25, n. 2, p. 68-71, 2000.

EMILSON, C. G. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. **Scand. J. Dent.**, v. 85, p. 255-265, Sep., 1977.

ERCAN, E. *et al.* Antibacterial Activity of 2% Chlorhexidine Gluconate and 5.25% Sodium Hypochlorite in Infected Root Canal: In Vivo Study. **J. Endod.**, v.30, n.2, p. 84-87, Feb., 2004.

ESTRELA, C. *et al.* Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. **Braz. Dent. J.**, v.6, p.85-90, 1995.

ESTRELA, C. *et al.* Antimicrobial Evaluation of Calcium Hydroxide in Infected Dentinal Tubules. **J. Endod.**, v. 25, n. 6, p. 416-418, Jun., 1999.

ESTRELA, C. R. A. **Eficácia antimicrobiana de soluções irrigadoras de canais radiculares**. (Master's thesis). Goiania: Federal University of Goiás; 2000. 80p. Internet site: <http://estrela.neomundi.com.br/>

ESTRELA, C. *et al.* Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite. **Braz. Dent. J.**, v. 13, n. 2, p.113-117, Jan., 2002.

ESTRELA, C. *et al.* Antimicrobial Effect of 2% Sodium Hypochlorite and 2% Chlorhexidina Tested by Different Methods. **Braz. Dent. J.**, v. 14, n. 1, p. 58-62, 2003.

ESTRELA, C. *et al.* Control of Microorganisms *In Vitro* by Endodontic Irrigants. **Braz. Dent. J.** , v. 14, n.3, p. 187-192, Jun., 2003.

FABRICIUS, L.; DAHLÉN, G.; HOLM, S.E.; MÖLLER, A.J.R. Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. **Scand. J. Dent. Res.** V. 90, n.3, p. 200-6, 1982.

FAIRBANKS *et al.* Avaliação da ação de três soluções auxiliares quelantes na microdureza da dentina radicular. **Rev. Bras. Odont.**, v. 54, n. 4, p. 232-5, jul/ago, 1997.

FAVA, L.R.G.; SAUNDERS, W.P. calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. **Int Endod J.** v. 32, n. 4, p. 257-82, Aug., 1999.

FERNADES, A.T. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área de saúde.** São Paulo: Atheneu, vol. 1 e 2, 2000. 1721 p.

FERREIRA, C. M. *et al.* Evaluation of the Antimicrobial Activity of Three Irrigating Solutions in Teeth With Pulpal Necrosis. **Braz. Dent. J.** , v. 10, n.1, Sep., 1999.

FERREIRA, L.R.; BIRAL, R.R.; VALDRIGHI, L. Preparo químico-mecânico dos canais radiculares: Influência da técnica de instrumentação na quantidade de material necrótico projetado através do forame apical (estudo “*in vitro*”). **Rev. Gaúcha Odontol.** , v. 37, n.2, p. 133-6, mar./ abr., 1989.

FIDEL *et al.* Análise Comparativa da Capacidade de Limpeza de Quatro Substâncias Irrigantes de Canais Radiculares. **Rev. Bras. Odont.** v. 51, n. 2, p. 37-9. mar./ abr., 1994.

FISH, E.W. Bone infection. **J.A.D.A.**, v. 26, n.5, p. 691-712, 1939.

GAMBARINI, G. Rationale for use of low-torque endodontic motors in root canal instrumentation. **Endod. Dent. Traumatol.** V. 16, p.95-100, 2000.

GOLDMAN, L. B. *et al.* Scanning electron microscope study of a new irrigation method in endodontic treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pthol.** V.48, n.1, p.79-83. Jul., 1979.

GOLDMAN, M.; GOLDMAN, L.; KRONMAN, J.; LIN, P.S. The efficacy of several irrigating solutions for endodontics: a scanning electron microscopic study. **Oral Surg**, v.2, p.197-204, 1981.

GOMES B. P. F. A. *et al.* *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.**, V.34, p. 424-428, 2001.

GOMES B.P.F.A. *et al.* Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. **Int. Endod. J.**, v. 36, p. 267-275, Oct., 2003.

GROSSMAN, L.I. Irrigation of Root Canals. **J.A.D.A.**, v.30, p. 1915-1917, Dec., 1943.

GROSSMAN, L.I. **Endodontia Prática**. 3 ed. ATHENEU. Rio de Janeiro, 1963.

GROSSMAN, L.I.; MEIMAM, B.W. Solution of pulp tissue by chemical agents. **J.A.D.A.**, v. 28, n. 2, p. 223-5, Feb., 1941.

HAAPASALO, M. & ØRSTAVIK, D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. **J. Dent. Res.**, v. 66, n. 8, p. 1375-9, Aug., 1987.

HAAPASALO, M. Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumine. **Int. Endod. J.**, v. 34, n. 3, p. 184-1/2, Apr., 2001.

HELING, I.; CHANDLER, N.P. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. **Int. Endod. J.**, v. 31, p. 8-14, 1998.

INGLE, J.I.; BEVERIDGE, E. E. **Endodontia**. 2. ed. Interamericana. São Paulo, 1981.

INGLE, J.I.; ZELDOW, B.J. An evolution of mechanical instrumentation and negative culture in endodontic therapy. **J.A.D.A.**, v.57, n. 4, p. 471- 6, Oct., 1958.

JEANSONNE, M.J; WHITE, R.R. A Comparison of 2.0% Chlorhexidine Gluconate and 5.25% Sodium Hypochlorite as Antimicrobial Endodontic Irrigants. **J. Endod.**, V.20,n.6, p.276-278. June, 1994.

JOHNSON, B.R.; REMEIKIS, N.A. Effective shelf-life of prepared sodium hypochlorite solution. **J. Endod.**, v.19, n.1, p.40-3, 1993.

KAKEHASHI, S.; SATANLEY, H.R.; FITZGERALD, R.J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pthol.**, v. 20, n. 3, p. 340-9, Sept., 1965.

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.**, v. 24, n. 7, p. 472-6, July, 1998.

LEONARDO, M. R; LEAL, J. M. **Endodontia: Tratamento dos canais radiculares**. 2. ed. Panamericana, São Paulo, 1991.

LEONARDO, M. R; LEAL, J. M. **Endodontia: Tratamento dos canais radiculares**. 3. ed. Editora Médica Panamericana. São Paulo, 1998. 902 p.

LIN, Y. *et al.* Effectiveness of Selected Materials Against *Enterococcus faecalis*: Part 3. The Antibacterial Effect of Calcium Hydroxide and Chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.**, v.29, n.9, p.565-566, Sep., 2003.

LOPES, H. P. *et al.* Influência de limas endodônticas de NiTi e de aço inoxidável, manuais e acionadas a motor no deslocamento apical. **Rev. Bras. Odont.**, v. 54, n. 2, p. 67-70, 1997.

LOPES, H. P.; SIQUEIRA JR., J. F. **Endodontia: Biologia e Técnica**. 1. ed. MEDSI, Rio de Janeiro, 1999.

MALLMANN, J. *et al.* Smear Layer- É necessário remove-lo?. **Rev. Bras. Odont.** V. 53, n.5, p.35-38. set., 1996.

MARSHALL, F., J.; PAPPIN, J., B. **Técnica de Oregonin** : De Deus, Q., D. Endodontia. 5 ed., Rio de Janeiro, Medsi, p. 337-343, 1992.

MARTIN. H. A telescop technic for endodontics. **J. Dent. Columbia Soc.**, v.49, n.2, p. 12-19, 1974.

MCCLELLAND, J.R.; WASS, M.J A contribution to the study of the chlorin disinfectants. **Dent. Cosmos**, v.64, n.1, p. 56-65, Jan., 1922.

McSPADDEN, J.T. Une nouvelle approche pour la preparation et l'obturation canalair. **Endo Revue Française d'Endodontie**, v.12, n. 1, p. 9-19, 1993.

MCSPADDEN, J.T. **Advanced Geometries in Endodontic Micro Files**. The rationale Chattanooga, The NT Company, 1996

MILANO, N.F. *et al.* Morfologia endodôntica de caninos e pré-molares inferiores. **Rev.- Fac. Odontol. Porto Alegre**, v. 32, n. 1, p. 25-6, jul., 1991.

MOORER, W.R.; WESSELINK, P. R. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. **Int. Endod. J.**, v. 15, n. 4, p. 186-7, 1982.

MORAES, S.H.; ARAGÃO, E.M.; HECK, A.R. Preparo dos canais radiculares com Sistema Quantec. **J. Bras. Clin & Estética em Odontologia**, v. 3, n. 15, p. 71-3, 1999.

MORSE, D.R. Use of medicative state for hypnotic induction in the practice of endodontics. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 41, n. 5, p. 664-72, May, 1976.

MULLANEY, T.P. Instrumentation of finely curved canals. **Dent. Clin. N. Amer.**, v. 23, n. 4, p. 575-92, Oct., 1979.

ØRSTAVIK, D; HAAPASSALO, M. Desinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod. Dent. Traumatol.** V.6, p.142-149. Jan. 1990.

PAIVA, J. G.; ALVARES, S. **Endodontia**. 2 ed. ATHENEU. São Paulo, 1979.

PAIVA, J. G.; ANTONIAZZI, J. H. O uso de uma associação de peróxido de uréia e detergente (Tween 80) no preparo químico-mecânico dos canais radiculares. **Rev. Assoc. Paul. Cirur. Dent.**, São Paulo, v. 27, n. 7, p. 416-423, 1973.

PAIVA, J. G.; ANTONIAZZI, J. H. **Bases para a prática clínica**. 2. ed. Artes Médicas Editora, São Paulo, 1991.

PATIÑO, P.V. *et al.* The influence of a Manual Glide Path on the Separation Rate of NiTi Rotary Instruments. **J. Endod.**, v. 31, n. 2, p. 114-6, Feb., 2005.

PÉCORA, J.D. *et al.* Effect of reduction of the surface tension of different concentrations of sodium hypochlorite solutions on radicular dentine permeability. **Brz. Endod. J.**, v.3, n. 2, p. 38-40, 1998.

PÉCORA, J.D. *et al.* Capacidade de umectação dos tensoativos (aniônicos, catiônicos e anfóteros). **Rev. Bras. Odont.**, v.45, n. 1, p. 22-5, jan./fev., 1988.

PÉCORA, J.D. *et al.* **Soluções auxiliares da biomecânica dos canais radiculares**. Disponível em <www.odontologia.com.br>. Jan., 2001.

RAMOS, C. A. S.; BRAMANTE, C. M. **Endodontia: Fundamentos biológicos e clínicos**. 2. ed. Editora Santos, São Paulo, 2001.

RIBEIRO, M.A.G. **Avaliação da quantidade de debris quando do preparo químico-cirúrgico da canais radiculares, utilizando quatro técnicas de instrumentação**. São Paulo, 1997. 81 p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ododntologia da Universidade Camilo Castelo Branco.

RIVERA, E.M.; WILLIANS, K. Placement of calcium hydroxide in simulated canals: Comparison of glycerin versus water. **J. Endod.**, v. 20, n. 9, p. 445- 448, Sept., 1994.

SANTOS, A. J; SAMPAIO, M. I. **Efeito hemolítico e hemoglobinolítico de algumas soluções utilizadas no preparo biomecânico do sistema de canais radiculares, através de diluições em soro fisiológico normal (in vitro)**. Disponível em < www.odontologia.com.br>. out.,2001.

SAQUY, P. C. *et al.* Avaliação da Capacidade Quelante do EDTA e da Associação EDTA mais solução de Dakin, por métodos químicos e pela análise da Microdureza da Dentina. **Rev. Bras. Odont.**, v. 52, n. 6, p. 51-5. Nov./ Dez. , 1995.

SASSONE, L. M. *et al.* Antimicrobial Activity of Different Concentrations of NaOCl and Clhorhexidine Using a Contact Test. **Braz Dent J.**, v.14, n. 2, p.99-102, Oct., 2003.

SAFAVI, K.E.; SPANGBERG, L.S.W.; LANGELAND, K. Root canal dentinal tubule disinfection. **J. Endod.**, v. 5, p. 207-10, 1990.

SCHILDER, H. Cleaning and shaping the root canal. **Dent. Clin. N. Amer.**, v. 1/2, n. 2, p. 369-96, Apr. , 1974.

SCHÄFER, E.; BÖSSMANN, K. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Two Calcium Hydroxide Formulations Against *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.**, v.31, n. 1, Jan., 2005.

SCHRADER, C.; ACKERMANN, M.; BARBAKOW, F. Step-by-step description of a rotary root canal preparation technique. **Int. Endod. J.**, v. 32, p.312-20, 1999.

SEM, B.H.; PISKIN, B.; DEMIRCI, T. Observation of bacteria and fungi in infected root canal and dentinal tubules by SEM. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.11, p. 6-9, 1995.

SERPER, A. *et al.* Accidental Sodium Hypochlorite – Induced Skin Injury During Endodontic Treatment. **J. Endod.**, v.30, n.3, p. 180-181, Mar., 2004.

SIQUEIRA JR., J. F. **Tratamento das Infecções Endodônticas**. 1 ed. MEDSI. Rio de Janeiro, 1997

SIQUEIRA JR., J. F. *et al.* Chemomechanical Reduction of Bacterial Population in the Root Canal after Instrumentation and Irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% Sodium Hypochlorite. **J. Endod.**, v.26, n. 6, Jun., 2000.

SJÖGREN, U.; HAGGLUND, B.; SUNDQVIST, G. ; WING, K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. **J. Endod.**, v.16, n. 10, p. 498-504, 1990.

SJÖGREN, U. *et al.* The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. **Int. End. Journal**, v. 24, n. 3, p. 119-25, May, 1991.

SLOTS, J.; TAUBMAN, M.A. **Contemporary oral microbiology and immunology**. Philadelphia: Mosby, 1992. 649 p.

SOARES, J. A. *et al.* Soluções Irrigadoras *versus* Dor após Endodontia em Sessão Única, em Dentes com Patologias Periapicais. **Rev. APCD**. V.55, n.2, p.125-129. mar./abr., 2001.

SOARES , I.J.; GOLDBERG, F. **Endodontia: Técnica e Fundamentos**. Porto Alegre: Artmed, 2001.

SOMMER, R. F *et al.* **Clinical Endodontics: A manual of Scientific Endodontics**. 3 ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia. Nov., 1966.

SOUZA FILHO, F.J. **Avaliação em microscopia eletrônica de varredura da ação de substâncias químicas irrigadoras de canais radiculares na permeabilidade da dentina radicular.** 2002. Tese (livre-docência) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, São Paulo.

SPANGBERG, L.; ENGSTRÖM, B.; LANGELAND, K. Biologic effects of dental materials. Toxicity and antimicrobial effects of antiseptics *in vitro*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 36, p. 856-71, 1973.

SUNDQVIST, G. Associations between microbial species in dental root canal infections. **Oral Microbiol Immunol** , v. 7, n. 5, p. 257-262, Oct., 1992.

SUNDQVIST, G. Ecology of the root canal flora. **J. Endod.**, v. 18, n. 9, 1992.

SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D.; PERSSON, S.; SJÖGREN, U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 85, n.1, 1998.

TANOMARU FILHO *et al.* Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. **Int. Endod. J.**, v. 35, p. 735-9, 2002.

TASMAN, F.; CEHRELI, Z.C.; ORGAN, C.; ETIKAN, I. Surface tension of root canal irrigants. **J. Endod.**, v. 26, n.10, p. 586-7, Oct., 2000.

THOMPSON, S.A.; DUMMER, P.M.H. Shaping ability of Profile .04 Taper Series 29 rotary nickel-titanium instruments in simulated root canals. Part 1. **Int. Endod. J.**, v.30, p. 1-7, 1997.

TROSTAD, L.; BARNETT, F.; RISO, K.; SLOTS, J. Extraradicular endodontic infections. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.3, n. 2, p. 86-90, 1987.

VAHDATY, A. *et al.* Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules *in vitro*. **Endod. Dent. Traumatol.** v. 9, p. 243-8. Apr. , 1993.

VAUGHAN, M., E.; GARNICK, J., J. The effect of a 0,125% chlorhexidine rinse on inflammation after periodontal surgery. **J. Periodontol**, v. 60, n. 12, p. 704-8, Dec., 1989.

VIANNA, M., E. *et al.* *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral Sur Oral Med Oral Pathol.**, v.97, n.1, p. 79-84, Jan., 2004.

WALIA, H.; BRANTLEY, W.A.; GERSTEIN, H. Na initial investigation of the bending and torsional properties of nitinol root canal files. **J. Endod.**, v. 14, n. 7, p. 346-51, 1988.

WALTIMO, T. M. *et al.* In vitro yeast infection of human dentin. . **J. Endod.**, v. 26, n. 4, p. 207-9, Nov., 2000.

WALTON, R. E. Histologic evaluation of different methods of enlarging the pulp canal space. **J. Endod.**, v.2, n.10, p. 304-11, Oct., 1976.

WALTON, R. E. ; TORABINEJAD, M. **Princípios Práticos em Endodontia**. 1. ed. Editora Santos, São Paulo, 1997.

WEINE, F.S.; KELLY, R.F.; LIO, P.J. The effects of preparation procedures on original canal shape and apical foramen shape. **J. Endod.**, v.1, n.½, p. 255-62, Aug., 1975.

WEST, J.D.; ROANE, J.B. Limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares. In: COHEN, S. ; BURNS, R.C. **Caminhos da Polpa**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2000.

WHITE, R. R. *et al.* Residual Antimicrobial Activity After Canal Irrigation with Chlorhexidine. **J. Endod.**, v. 23, n. 4, p. 229-231, Apr., 1997.

WUERCH, R. M. W. *et al.* Effect of Chlorhexidine Gel as na Intracanal Medication on the Apical Seal of the Root-Canal System. **J. Endod.**, v.30, n. 11, p. 788-791, Nov., 2004.

YANG, S. Canal Debridament: Effectiveness of Sodium Hypochlorite and Calcium Hydroxide as Medicaments. **J. Endod.**, v. 22, n. 10, p. 521-5. Oct., 1996.

YARED, G.M.; BOU DAGHER; MACHTOU, P. Failure of Profile instrumentation used with high and low torque. **I. End. Journal**, v. 34, p. 471-5, 2001.

YARED, G.; KULKARNI, G. K. An *in vitro* study of the torsional properties of new and used rotary nickel-titanium files in plastic blocks. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 94, n.4, p. 466-71, 2003.

ZAMANY *et al.* The effect of chlorhexidine as na endodontic disinfectant. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 96, n. 5, p.578-81, Nov., 2003.

ANEXO A

Tabela 3- Valores de correspondência da escala nefelométrica de McFarland, em relação ao número e a composição do tubo e sua correspondência em número de unidades formadoras de colônia por ml de meio de cultura (CFU/ml)

Nº da escala	Composição	CFU/ml
0 (zero)	10mL de H ₂ SO ₄ 1%	0
½ (meio)	0,05 mL de CaCl ₂ 1% 9,95 mL de H ₂ SO ₄ 1%	1,5x10 ⁶
1 (um)	0,10 mL de CaCl ₂ 1% 9,90 mL de H ₂ SO ₄ 1%	3x10 ⁶
2 (dois)	0,20 mL de CaCl ₂ 1% 9,80 mL de H ₂ SO ₄ 1%	6x10 ⁶
3 (três)	0,30 mL de CaCl ₂ 1% 9,70 mL de H ₂ SO ₄ 1%	9x10 ⁶
4 (quatro)	0,40 mL de CaCl ₂ 1% 9,60 mL de H ₂ SO ₄ 1%	12x10 ⁶
5 (cinco)	0,50 mL de CaCl ₂ 1% 9,50 mL de H ₂ SO ₄ 1%	15x10 ⁶
6 (seis)	0,60 mL de CaCl ₂ 1% 9,40 mL de H ₂ SO ₄ 1%	18x10 ⁶
7 (sete)	0,70 mL de CaCl ₂ 1% 9,30 mL de H ₂ SO ₄ 1%	21x10 ⁶
8 (oito)	0,80 mL de CaCl ₂ 1% 9,20 mL de H ₂ SO ₄ 1%	24x10 ⁶
9 (nove)	0,90 mL de CaCl ₂ 1% 9,10 mL de H ₂ SO ₄ 1%	27x10 ⁶
10 (dez)	1,00 mL de CaCl ₂ 1% 9,00 mL de H ₂ SO ₄ 1%	30x10 ⁶

Tabela 4- Padrão de absorvância em OD (densidade óptica) – culturas representativas de acordo com a escala nefelométrica de McFarland

Nº Tubo- Escala McFarland	Absorvância nm
½	0,159
1	0,334
2	0,630
3	0,750
4	0,855
5	1,259
6	1,470
7	1,730
8	1,920
9	2,070
10	2,180

Avaliação feita por espectrofotômetro de massa ULTROSPEC 1000 (Amershan pharmacia biotec - England)- calibrado com água destilada em comprimento de onda $\lambda = 600$ nm (comprimento de onda freqüentemente utilizado para medição de células bactérias).

ANEXO B

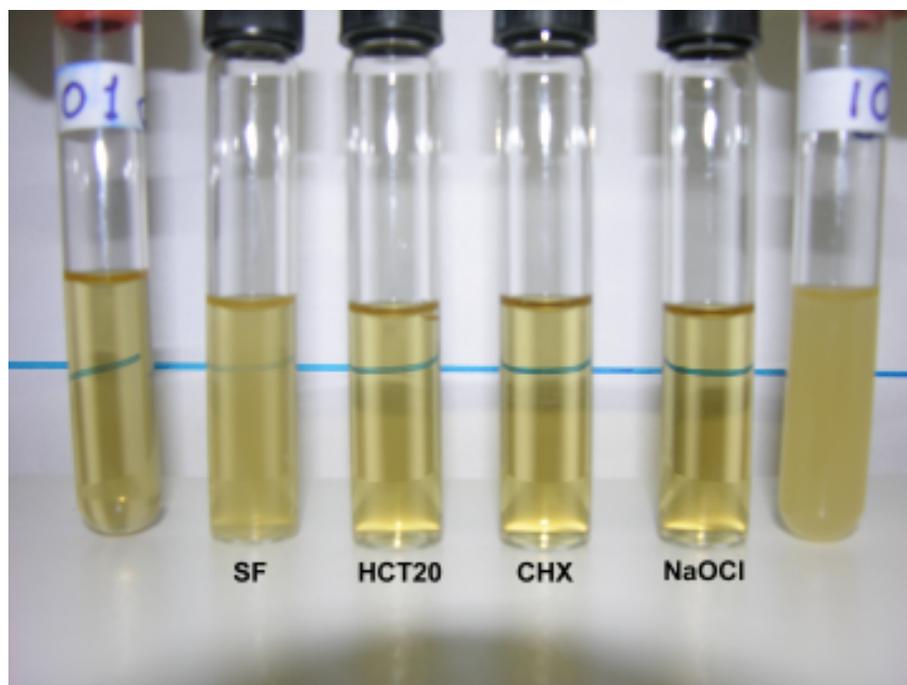


FIGURA 1 - Grau de turvação do meio de cultura contendo raspas de dentina de incisivos humanos contaminados por *E. faecalis* e submetidos ao preparo químico-mecânico – amostras do tempo Zero comparadas com o padrão de McFarland

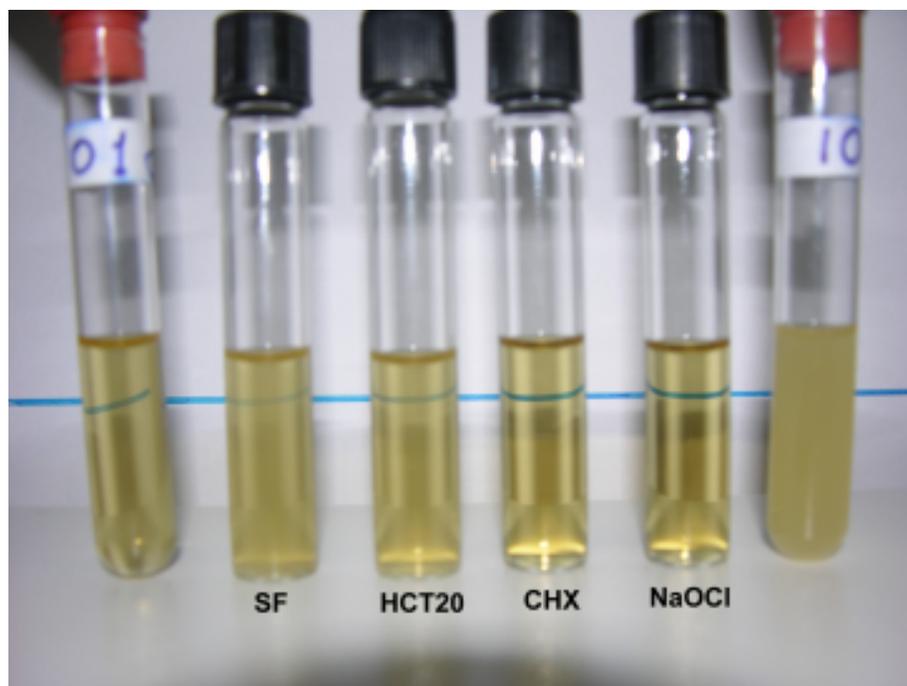


FIGURA 2- Grau de turvação do meio de cultura contendo raspas de dentina de incisivos humanos contaminados por *E. faecalis* e submetidos ao preparo químico-mecânico - amostras do intervalo de tempo de 48 horas comparadas com o padrão de McFarland

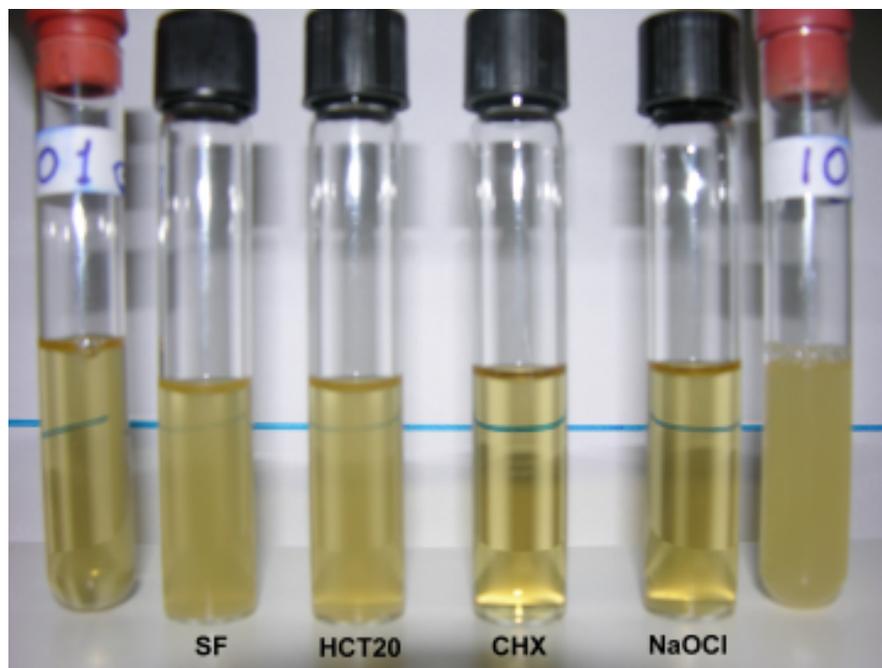


FIGURA 3- Grau de turvação do meio de cultura contendo raspas de dentina de incisivos humanos contaminados por *E. faecalis* e submetidos ao preparo químico-mecânico – amostras do intervalo de tempo de 72 horas comparadas com o padrão de McFarland

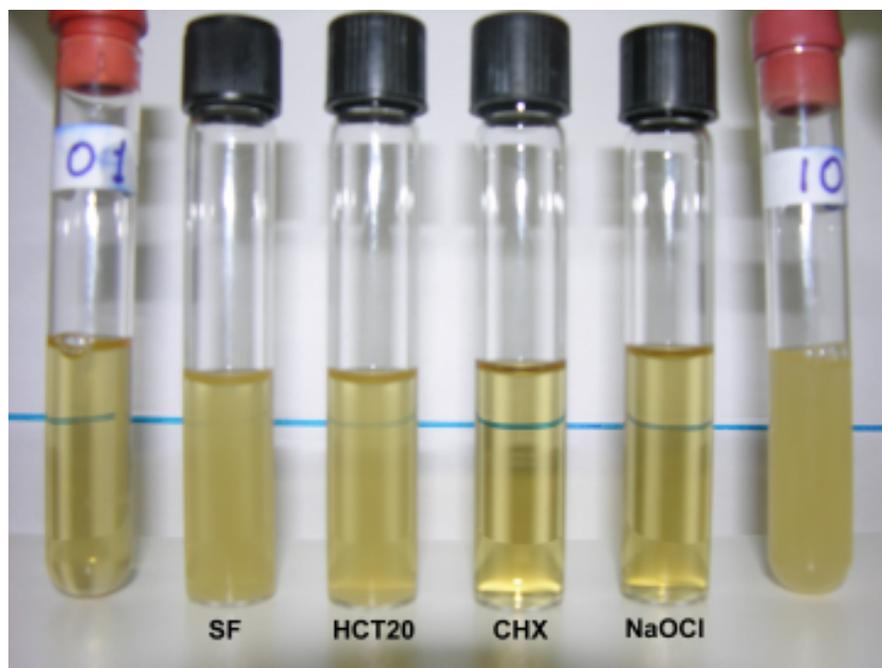


FIGURA 4- Grau de turvação do meio de cultura contendo raspas de dentina de incisivos humanos contaminados por *E. faecalis* e submetidos ao preparo químico-mecânico – amostras do intervalo de tempo de 7 dias comparadas com o padrão de McFarland

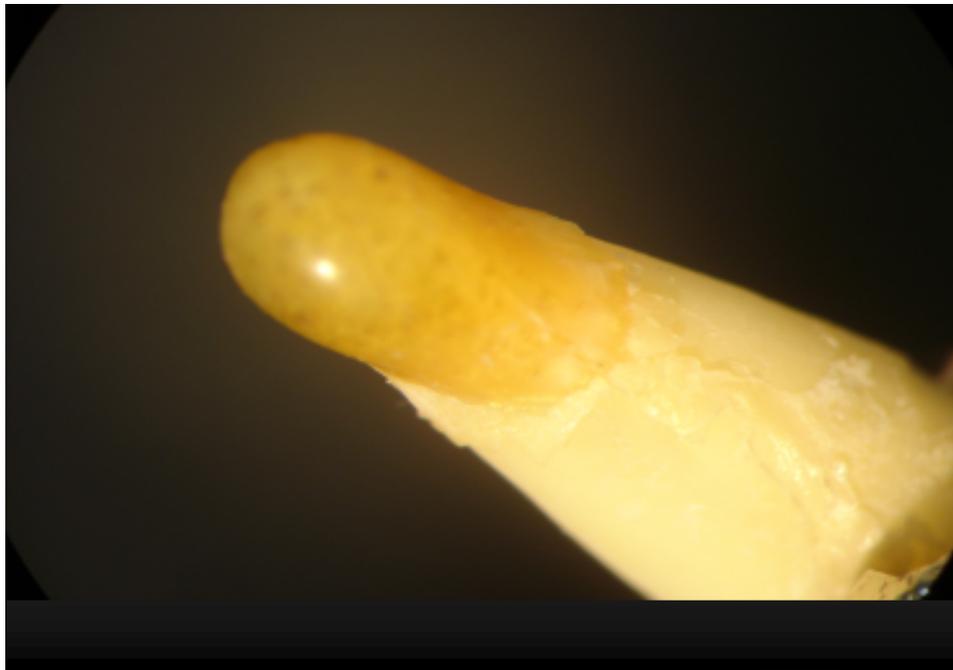


FIGURA 5 – Selamento apical da raiz do incisivo com resina epoxi Araldite® (Hooby – Brascola – Brasil)

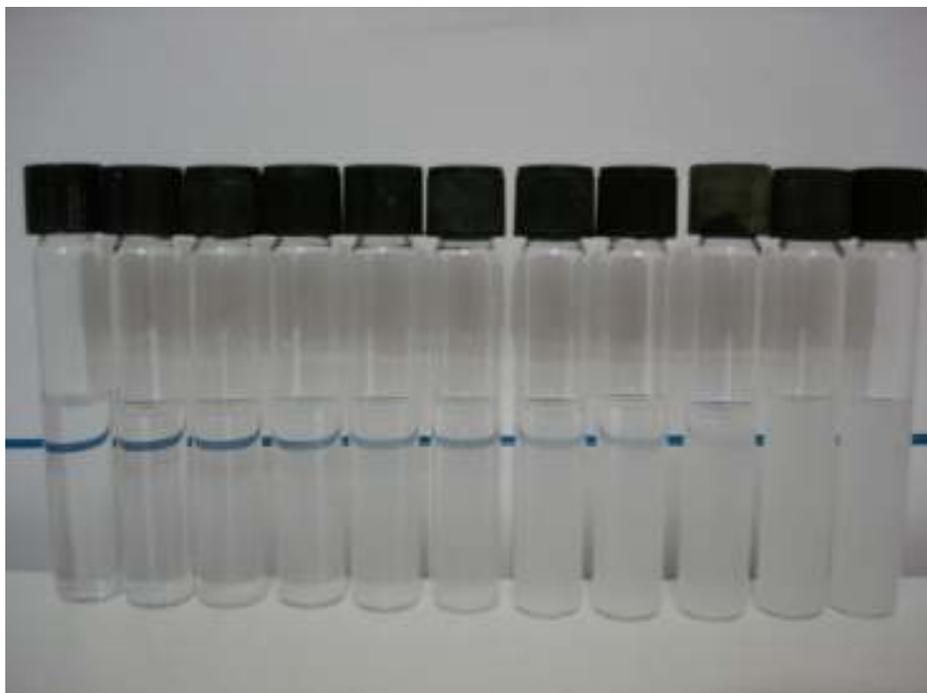


FIGURA 6 – Escala Nefelométrica de McFarland