

SORAIA VELOSO SILVA SANTANA

**AVALIAÇÃO DA DESINFECÇÃO DO CANAL RADICULAR FRENTE
AO PREPARO QUÍMICO-CIRÚRGICO POR MEIO ROTATÓRIO
ASSOCIADO OU NÃO A TRATAMENTO QUÍMICO COMPLEMENTAR**

São Paulo

2008

Soraia Veloso Silva Santana

**Avaliação da desinfecção do canal radicular frente ao preparo
químico-cirúrgico por meio rotatório associado ou não a tratamento
químico complementar**

Dissertação apresentada a Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo programa de pós-graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Bombana

São Paulo

2008

FOLHA DE APROVAÇÃO

Veloso-Santana SS. Avaliação da desinfecção do canal radicular frente ao preparo químico-cirúrgico por meio rotatório associado ou não a tratamento químico complementar [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

São Paulo, / /2008

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

A Deus,

Pelo seu infinito amor a mim.
Por ser meu amigo, companheiro, consolador, meu escudo.
Por sua presença constante iluminando o meu caminhar.
Pela oportunidade de completar mais um ciclo na vida e iniciar um novo.

Á minha mãe, *Sueli*, que me presenteou com a vida, e compartilhou comigo todos os momentos dessa trajetória. Meu amor, minha gratidão e reconhecimento!

A minha avó *Raimunda Sacramento Veloso*, exemplo de dedicação e amor ao trabalho e à família. Minha eterna gratidão.

Dedico este trabalho a:

A **Odilon Matos Rasquin** pelo incentivo, auxílio dado durante a graduação; minha gratidão. Certamente, o aprendizado e a confiança em mim depositada jamais serão esquecidos.

*Pode ser que um dia não mais existamos
Mas, se ainda sobrar amizade
Nasceremos de novo, um para o outro.*

Albert Einstein

“Saudade é a maior prova do que o passado valeu a pena”

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À **Polícia Militar do Estado da Bahia**, na pessoa do comandante geral Sr. Cel. PM Antonio de Jorge Ribeiro de Santana, pela permissão de licença e apoio institucional para realização deste trabalho.

Ao Serviço de Apoio Administrativo e financeiro do Departamento de Administração da PMBA, na pessoa do Cel. PM Julio Nunes Pinheiro Filho e do Capitão PM Alexandre Costa de Souza.

Ao Ten. Cel. PM Paulo Afonso Santana por acreditar e estimular este desafio.

Ao Ten. Cel. Romualdo de Barros pelo apoio .

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador **Antonio Carlos Bombana** pelo incentivo e estímulo amigo, por prevalecer sempre o educador. Pela sabedoria, por sua amizade, carinho e dedicação, orientando sempre meus passos. Por toda sua serenidade e seriedade na condução de cada etapa deste trabalho. Por acreditar em mim! Por acreditar no meu sonho e me ajudar a concretizá-lo.

Muito obrigada!

*Não se pode falar de
educação sem amor.*

Paulo Freire

*Há quem diga que todas as noites
são de sonhos. Mas há também
quem garanta que nem todas, só
as de verão.*

*Mas no fundo isso não tem muita
importância. O que interessa
mesmo não são as noites em si, são
os sonhos.*

*Sonhos que o homem sonha
sempre.*

*Em todos os lugares, em todas as
épocas do ano, dormindo ou
acordado."*

Shakespeare

A professora Dr^a **Márcia Pinto Alves Meyer** Por receber-me em seu laboratório.
Pela ajuda na reprodução da metodologia. Pelo carinho, atenção, amizade,
companheirismo e estímulo no caminho da pesquisa.

Lembre-se: “O essencial é invisível aos olhos”.

Aos **Professores da disciplina de Endodontia da FOUSP**, agradeço os
ensinamentos e o convívio prazeroso.

Aos professores **Giulio Gavini e Celso Caldeira** pela estima, carinho e amizade.
Ter vocês como amigos fazem de mim uma pessoa privilegiada!

Aos **Professores da disciplina de Endodontia da Faculdade de odontologia da**
Universidade Federal da Bahia pela dedicação.

Aos professores **Sílvio Albergaria e Fátima Malvar** pelos ensinamentos
transmitidos e atenção dispensada sempre que solicitada e por sempre torcerem
pelo meu sucesso.

Aos **Professores e Suplentes da Banca Examinadora**

de qualificação e de defesa, por sempre estarem dispostos a contribuir com o engrandecimento científico deste trabalho.

Aos Colegas de pós graduação em Clínicas Odontológicas, pela amizade e companheirismo.

As amigas **Dirce e Eliana**:

“só os verdadeiros amigos deixam impressões em seu coração”.

A amiga **Adriana Paisano** pela amizade e companheirismo.

“Um verdadeiro amigo é aquele que entra quando todos os demais se vão”

Aos amigos Washington, Sérgio, Cidão, Alessandra, Carmen, Ângela, Camila;
Luciano, Carmo e Alexandre .

Agradeço o carinho, o incentivo e o auxílio.

A **Patrícia Ferrari** que além do incentivo me apoiou em momentos difíceis.

Obrigada!

A **Mary Caroline** pelo carinho e apoio: Que Deus a abençoe!

A **Luigina Hidalgo**: Pelo afeto, e disponibilidade sempre.

Aos funcionários do Departamento: Ana Maria, David, Luizinho e Arnaldo.

À técnica do laboratório do Departamento de Dentística da Fousp, Sôzinha.

Ao técnico do laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas
da USP, João.

As Secretarias da Pós-Graduação Cátia, Alessandra, Nair e Donata.

As bibliotecárias Glauci Elaine Damasio Fidelis e Vânia Martins Bueno de
Oliveira Funaro.

Aos funcionários da FOUSP.

*“Elevo os meus olhos para os montes;
De onde virá meu socorro?
Meu socorro vem do Senhor que fez o céu e
a terra.
Não deixará vacilar o teu pé;
Aquele que te guarda não te queimará
nem dormirá o guarda de Israel.
O Senhor é que te guarda de todo mal; ele
guardará a tua alma. O Senhor é quem te
guarda;
O Senhor é tua sombra à tua direita.
O sol não te molestará de dia nem de noite.
O Senhor te guardará de todo mal;
Ele guardará a tua alma.
O Senhor guardará a tua entrada e a tua
saída, desde agora e para sempre.”*

Salmo 121

Veloso-Santana SS. Avaliação da desinfecção do canal radicular frente ao preparo químico-cirúrgico por meio rotatório associado ou não a tratamento químico complementar [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

RESUMO

A desinfecção dos canais radiculares figura como constante preocupação clínica. Esta pesquisa teve a proposta de verificar o nível de desinfecção alcançado pela instrumentação mecanizada utilizando o sistema K3 em relação ao uso desse mesmo sistema associado a um tratamento químico dentinário complementar. Foram utilizados 16 caninos inferiores unirradiculares, que foram aleatoriamente divididos em dois grupos. Foram realizados 2 ensaios em dias diferentes, cada ensaio formado por 8 dentes em cada grupo. As coroas dos dentes foram cortadas e o tamanho das raízes padronizado em 15 mm. Os canais foram esvaziados com auxílio de limas tipo K de números 10 ou 15 com hipoclorito de sódio a 1% seguido de 20 mL de tiosulfato de sódio a 5%. Seguiu-se então a odontometria. Os dentes foram impermeabilizados externamente por duas camadas de cianoacrilato de etila e montados em tubos Eppendorf a expensas de adesivo epóxico. Os conjuntos (raiz + Eppendorf) foram esterilizados em autoclave por 20 min a 134 °C. Os espécimes foram inoculados com uma da suspensão correspondente à concentração bacteriana 0,5 da escala de Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC). A primeira coleta microbiológica foi realizada imediatamente após o tempo de incubação para estabelecer o número de unidades formadoras de colônias. O preparo químico-cirúrgico dos canais radiculares do grupo 1 foi realizado apenas por meio do sistema rotatório K3. Cones de papel absorvente esterilizados foram inseridos no canal radicular para nova coleta. Os dentes do Grupo 2 também tiveram os canais radiculares preparados com sistema rotatório K3 até a fase de irrigação-aspiração final com hipoclorito de sódio a 0,5% e EDTA-T a 17%. Após essa etapa foi realizado o tratamento químico da dentina que correspondeu à inserção de solução de hipoclorito de sódio a 1% no interior da cavidade pulpar e com uma lima tipo K de número 25 a solução foi agitada durante um minuto. Esse procedimento foi repetido 5 vezes num total de 10 mL dessa substância e somando um tempo de 10 minutos. A irrigação final foi efetuada com 10 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,5% seguidas de 20 mL de solução de EDTA- T a 17% (pH 7,0). Nova coleta para exame microbiológico foi realizada. Essas suspensões sofreram diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-7} em água peptonada antes do preparo químico-cirúrgico e de 10^{-1} a 10^{-5} após o mesmo. As diluições foram então semeadas em triplicata em placas contendo TSA. Após o período de 24 h de incubação as placas que apresentaram crescimento bacteriano tiveram o número de unidades formadoras de colônias (UFCs) determinado. Embora houvesse redução da população bacteriana em ambos os

grupos no que se refere ao pré e pós-operatório, os resultados demonstraram que não houve diferença estatística significativa entre os grupos de estudo ($p>0,05$).

Palavras-Chave: Desinfecção ;Preparo Químico Cirúrgico; Instrumentação rotatória

Veloso-Santana SS. Assessment of the disinfection of root canals using a rotatory system associated or not to a complementary chemical treatment. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

ABSTRACT

The effective disinfection of root canals represents a constant clinical concern. This research aimed at verifying the level of disinfection achieved by mechanical instrumentation using the K3 system when compared to the associated use of the same system and a complementary chemical dentinal treatment. Sixteen single-rooted lower canines were randomly divided into two groups. Two experiments, each using 8 teeth per group, were conducted on different days. The dental crowns were sectioned and the root length was standardized to 15 mm. The canals were instrumented using #10 or 15 K-files with 1% sodium hypochlorite, followed by 5% sodium thiosulfate. The root canals were measured. The teeth were made externally impermeable by two layers of ethyl cyanoacrylate and placed in Eppendorf tubes using epoxy resin. The compounds (root + Eppendorf) were sterilized in an autoclave for 20 min at 134°C. A suspension that corresponds to the bacterial concentration of 0.5 on the McFarland scale (1.5×10^8 CFU) was inoculated onto the specimens. The first microbiological sample collection was done immediately after incubation in order to determine the number of colony-forming units. Chemical preparation of the root canals of group 1 was done using the K3 rotatory system exclusively. Sterile paper cones were inserted into the canal for a new collection. Teeth from group 2 also had their root canals prepared using the K3 rotatory system up to the phase of final irrigation with 0.5% sodium hypochlorite and 17% EDTA-T. Next, chemical dentinal treatment was done by inserting a 1% sodium hypochlorite solution into the pulp cavity and agitating for one minute with the aid of a #25 K-file. This step was repeated 5 times using a total of 10 ml of the solution for a total duration of 10 minutes. Final irrigation was done using 10 ml of 0.5% sodium hypochlorite solution followed by 20 ml of 17% EDTA-T (pH 7.0). A new collection for microbiological examination was done. These suspensions underwent serial dilutions from 10^{-1} to 10^{-7} using peptone water before preparation and from 10^{-1} to 10^{-5} afterwards. The dilutions were then inoculated thrice onto TSA plates. After an incubation period of 24h, the number of colony-forming units (CFU) was determined for the plates which presented with bacterial growth. Although there was a reduction of the bacterial population in both experimental groups when pre and post-operative counts were compared, results demonstrated that there was no statistically significant difference between the two study groups ($p > 0.05$).

Keywords: Disinfection; Rotatory instrumentation, Chemical root preparation

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C	gênero <i>Candida</i>
°C	Celsius ou centígrado
<i>E</i>	<i>Enterococcus</i>
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EDTA – C	Ácido etilenodiaminotetracético -Cetavlon
EDTA – T	Ácido etilenodiaminotetracético – tergentol
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogenio
g	Gramma
L	Litro
MEV	Microscopia / microscópio eletrônico de varredura
mg	Miligramma
min	Minutos
mL	Mililitro
mm	Milímetro
NaOCl	Hipoclorito de sódio
TGA	Therapeutic Goods Administration
<i>A</i>	Gênero <i>actinomyces</i>
PCR	Polymerase Chain Reaction
PQC	Preparo Químico Cirúrgico
ATCC	American Type Culture Collection
OPW	Oxidative potential water
MTT	Metiltetrazolium

P	Significância estatística
Ph	Potencial hidrogeniônico
PMCC	Paramonoclorofenol canforado
®	Marca registrada
S	Gênero <i>Staphylococcus</i> ou <i>Streptococcus</i>
Sp	Espécie
™	Marca
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
Ufc	Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1 Microbiota Endodôntica	22
2.2 Substâncias químicas auxiliares	28
2.3. Instrumentos rotatórios	55
3 PROPOSIÇÃO	61
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	62
5 RESULTADOS	71
6 DISCUSSÃO	73
7 CONCLUSÃO.....	80
REFERENCIAS	81
ANEXO	

1 INTRODUÇÃO

A desinfecção dos canais radiculares figura como constante preocupação clínica. É grande a quantidade de pesquisas voltadas à avaliação da eficácia dos procedimentos de preparo químico-cirúrgico, bem como, sobre a influência das substâncias químicas auxiliares e dos diversos tipos de medicações intracanal.

Qualquer tipo de microrganismo encontrado na cavidade oral, teoricamente, possui capacidade em invadir o espaço endodôntico participando do processo de infecção.

Os relatos encontrados na literatura apontam maior presença de bactérias, apesar de também terem sido observadas outras formas de microrganismos nessas infecções. O desenvolvimento de conhecimentos específicos tornou possível a identificação de microrganismos não só no interior dos canais como também na região periapical.

O quadro infeccioso endodôntico pode variar de acordo com a via usada pelos microrganismos para chegar ao sistema de canais radiculares. As principais vias de acesso dos microrganismos até a cavidade pulpar são: cárie dental, exposições dentinárias, doenças periodontais avançadas e a via anacorética. Há uma diferença na microbiota dessas infecções em função da existência ou não de franca comunicação com a cavidade oral.

O ambiente dos canais radiculares determina seletividade à infecção microbiana comandada que é, pela tensão de oxigênio, viabilidade de nutrientes e interações microbianas. Não existindo comunicação direta entre o meio bucal e a cavidade pulpar decorrem dificuldades na reposição do oxigênio consumido.

Conseqüentemente, o perfil da microbiota passa a sofrer alterações qualitativas.

Assim, nos casos de insucesso no tratamento endodôntico decorre predominância de microrganismos anaeróbios facultativos que podem coexistir com fungos e eventualmente com outros microrganismos oportunistas.

Promovendo-se tratamento endodôntico por meio de uma correta desinfecção, limpeza e modelagem dos canais radiculares, obtíveis por meio do preparo químico-cirúrgico, seguido ou não de medicação intracanal, associado a selamento radicular e coronário eficientes, a tendência é a de controle sobre o processo infeccioso e conseqüente reparo das áreas lesadas.

Várias soluções químicas coadjuvantes para o preparo de canais radiculares têm sido sugeridas e empregadas.

Na busca de soluções coadjuvantes à manipulação mecânica própria dos tratamentos endodônticos que detenham o máximo de propriedades desejáveis, tais como ação antimicrobiana; compatibilidade tecidual; capacidade solvente de matéria orgânica e de limpeza dos canais radiculares, inúmeras pesquisas ao longo de várias décadas, tiveram oportunidade gerando novas alternativas na busca do atender dessas necessidades.

Soluções de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações são as substâncias químicas mais empregadas mundialmente de forma isolada como auxiliares da instrumentação de canais radiculares. Algumas técnicas propõem o uso de associações de fármacos na forma de cremes, géis ou mesmo líquidas com o objetivo de complementar as ações básicas das soluções de hipoclorito de sódio.

A infecção endodôntica manifesta-se diferentemente de infecções em outras partes do organismo. A condição de polpa necrosada impede as ações de células de defesas dada a ausência de vasos sangüíneos que as possam transportar, bem

como, torna impossibilitado o acesso de princípios ativos de antimicrobianos ao sítio infectado.

Essa condição valoriza em muito as ações locais quando da necessidade de se combater a infecção endodôntica. A maior parte da resolução do problema infeccioso se resolve por meio do preparo químico-cirúrgico, proceder que pode ser complementado por medicação intracanal específica.

Muitas substâncias, isoladamente ou em combinações, têm sido propostas para uso como medicação intracanal. A medicação intracanal consiste no emprego de medicamentos no interior do canal radicular com a função de atuar sobre microrganismos que resistiram ao preparo químico-cirúrgico e funcionar como barreira físico-química contra a possível reinfecção que pode ocorrer entre as sessões de tratamento.

O processo de desinfecção no tratamento endodôntico é bastante complexo e, ainda hoje, torna-se motivo de discussões, podendo ser avaliado sob vários enfoques.

O elemento essencial do preparo de canais radiculares sedia-se no saneamento do ambiente. Para tanto, a busca por instrumentos que vençam as complexas dificuldades anatômicas interna aos dentes vem desde há muito caracterizando incessante busca.

Nova geração de instrumentos endodônticos é representada por limas confeccionadas a partir de uma liga de níquel-titânio. A superelasticidade constitui o grande diferencial das ligas de NiTi em relação às de aço inoxidável. Esses instrumentos podem ser usados tanto manualmente quanto acionados a motor, tendo entretanto essa última forma a preferência dos profissionais.

Como em outras oportunidades frente a mudanças na sistemática de preparo

dos canais radiculares, uma parte foi plenamente atendida, enquanto outra não integralmente.

Assim, com a introdução dos sistemas rotatórios de preparo do canal houve intensa preocupação com as propriedades físicas, formas de utilização e desenho dos instrumentos, deixando à parte o desenvolvimento de substâncias químicas auxiliares compatíveis com a nova forma em se desenvolver o preparo químico-cirúrgico, que em função da mecanização, pode atualmente, ser desenvolvido em período de tempo substancialmente menor.

Dessa forma, o tempo de contato entre as substâncias químicas auxiliares e o contexto endodôntico fica diminuído quando da aplicação da instrumentação rotatória, criando dúvidas sobre a efetiva desinfecção propiciada por esse tempo operatório nessa condição.

É então proposta desta pesquisa verificar o nível de desinfecção alcançado pela instrumentação mecanizada utilizando o sistema K3 em relação ao uso desse mesmo sistema associado a um tratamento químico dentinário complementar.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Microbiota Endodôntica

Os microrganismos encontrados no interior do sistema de canais radiculares são os principais fatores etiológicos dos processos inflamatórios que acometem os tecidos pulpare e periapicais (KAKEHASHI;STANLEY;FITZGERALD,1965).

O controle antimicrobiano do canal radicular é delegado à sanificação proporcionada pela fase do preparo químico-cirúrgico. A presença de microrganismos no sistema endodôntico sempre representou um ponto crucial no processo de reparação dos tecidos afetados (FABRICIUS et al., 2006). Todos os microrganismos encontrados na cavidade oral, teoricamente, possuem a capacidade de invadir o espaço endodôntico participando do processo de infecção com a possibilidade de alcançar inclusive a região apical (JUNG et al., 2000).

O processo de limpeza e desinfecção em Endodontia tem sido pesquisado e discutido por vários autores (MILLER, 1894; SUNDQVIST, 1976; GOMES; LILLEY; DRUCKER, 1994, 1996; RANTA; HAAPASALO; RENTA, 1988; SUNDQVIST, 1994; SUNDQVIST et al., 1998; LOVE,2001; GOMES, 2002; FERRARI;BOMBANA; CA.,2005; STUART et al. 2006; KHADEMI; MOHAMMADI, HAVAEE, 2006; SIQUEIRA JR et al.,2007). Dessa forma, a determinação e o conhecimento dos microrganismos predominantes em canais radiculares representam fator decisivo no tratamento endodôntico.

Miller (1894), por meio de análise bacteriológica e observações microscópicas de esfregaços obtidos de polpas necrosadas, demonstrou a presença de distintos tipos de microrganismos no material analisado.

Mas foi Kakehashi, Stanley e Fitzgerald (1965) que associaram a presença de microrganismos com o desenvolvimento e permanência das alterações pulpares e periapicais. Eles utilizaram ratos convencionais e gnotobióticos e expuseram a polpa dental desses ratos ao meio bucal. Concluíram que nos ratos convencionais ocorreu o desenvolvimento de lesões crônicas ou necrose pulpar sempre associada a lesões periapicais e nos ratos gnotobióticos ocorreu apenas pequena inflamação e neoformação de dentina nas áreas expostas.

A conquista de novos métodos de pesquisa associada à evolução da Biologia Celular e Molecular, Bioquímica, Microbiologia e Genética, caracteriza vários avanços atuais na Endodontia. A evolução das técnicas de identificação dos microrganismos proporcionou que fosse constatado que as infecções presentes nos canais radiculares eram mistas, com predominância de bactérias anaeróbias Gram-negativas.

As numerosas espécies de microrganismos constituintes da flora de canais radiculares infectados somente puderam ser isoladas e estudadas após o desenvolvimento de técnicas modernas de coleta, tanto na luz do canal como em camadas profundas de dentina, técnicas de transporte para cultura e isolamento dos diferentes tipos de microrganismos (BROWN; RUDOLPH, 1957; WINKLER, 1959; MOLLER, 1966; FULGHUM, WIGGIS, MULLANEY, 1973; SUNDQVIST, 1976; DAHLÉN & HOFSTAD, 1977; BERGENHOLTZ, 1977; SUNDQVIST et al., 1979; SUNDQVIST, 1992)

Sundqvist (1976) avaliou as condições bacteriológicas de 32 canais de dentes unirradiculares com coroas híbridas e com polpas necrosadas como resultado de trauma dental e constatou que mais de 90% das cepas bacterianas isoladas eram anaeróbias estritas, confirmando o importante papel desses microrganismos e seus produtos na origem e perpetuação de lesões pulpares e periapicais.

A potencialização das infecções do canal radicular e da região periapical ocorre comumente em virtude do predomínio de bactérias anaeróbias (SUNDQVIST et al., 1979; DAHLÉN; BERGENHOLTZ, 1980; RANTA; HAAPASALO; RENTA, 1988; ANDO ; HOSHINO, 1990). Muitos fatores contribuem para que haja essa seleção na microbiota endodôntica, tais como: nutrição, potencial de oxido redução, pH, temperatura, interações positivas, antagonismos entre os microrganismos e os mecanismos de defesa do hospedeiro (MARSH ; MARTIN, 1992; GOMES; LILLEY; DRUCKER 1996b).

A concentração de oxigênio no interior do canal é determinante na composição da microbiota. Na fase inicial, em que o oxigênio está presente em grande quantidade originário dos componentes da microcirculação e da exposição à cavidade oral, ocorre prevalência de bactérias facultativas. Paralelo ao início da instalação da necrose tecidual tem-se uma redução de sua presença no interior do canal dada a falta da microcirculação. Com isso, ocorre o desenvolvimento de um meio adequado ao desenvolvimento de anaeróbios estritos pelo seu baixo potencial de óxido-redução (GOMES; LILLEY; DRUCKER, 1995; LOPES ; SIQUEIRA JR, 2004.)

Relações ecológicas, que ocorrem entre espécies que invadem o sistema de canais radiculares, podem influenciar no estabelecimento da microbiota infectante. Essas associações são provavelmente baseadas em demandas de relações

nutricionais (SUNDQVIST, 1992). As associações podem ser consideradas positivas, quando ambas as espécies são beneficiadas com a relação; ou negativas quando for inibitório para uma ou para ambos (GOMES; LILLEY; DRUCKER, 1994a, 1996a; SIQUEIRA JR ; UZEDA,1997).

O pH tecidual também é um fator limitante na instalação da microbiota. O pH do tecido sadio gira em torno de 7,2 e 7,4, tornando o meio incompatível para a ação das enzimas bacterianas. Contudo nos tecidos necrosados pH varia entre 6 e 7,0 propício à sobrevivência da maioria das espécies bacterianas (TRONSTAD ;KRESHTOOL; BARNETT,1990).

Os microrganismos mais comumente isolados dos canais radiculares são os facultativos *Streptococcus* e as espécies relacionadas tais como *Enterococcus* e *Gemella* (MORSE 1987; SUNDQVIST, 1994).

Enterococcus faecalis, são cocos facultativos anaeróbios Gram-positivos, responsáveis por cerca de 80 a 90% de infecções enterococais em humanos (RUOFF et al., 1990), sendo a espécie de enterococos mais prevalente nos canais radiculares (MOLANDER et al., 1998, SUNDQVIST et al., 1998). São freqüentes em casos de infecções contribuindo diretamente para a perpetuação da infecção endodôntica (LOVE 2001; GOMES, 2002; RADCLIFFE et al., 2004; FERRARI ; BOMBANA, 2005; STUART et al., 2006; ZOLETTI ;SIQUEIRA JR; SANTOS,2006).

Enterococcus faecalis produzem elastase, proteases e hemolisinas que são fatores de virulência que possuem papéis relevantes na patogênese das periodontites. Além destes fatores, várias cepas podem produzir beta-lactamase, tornando-as capazes de causar infecções difíceis de serem tratadas (RAMS et al., 1992; SUNDQVIST, 1992).

Love (2001) demonstrou que a habilidade do *E. faecalis* em causar doenças periapicais e insucessos em dentes tratados endodonticamente é devido a sua capacidade de invadir túbulos dentinários e de permanecer viável no seu interior. Esses fatos indicam o seu papel no desenvolvimento das lesões periapicais resistentes ao tratamento (GOMES; LILLEY; DRUCKER 1996b; SIREN et al., 1997; GOMES et al., 2001; LOVE, 2001) e sua associação com o insucesso do tratamento endodôntico (SUNDQVIST et al., 1998; DAHLÉN et al., 2000; LOVE, 2001; PECIULIENE et al., 2001).

Radcliffe et al. (2004) determinaram a resistência de microrganismos associados com infecções endodônticas refratárias ao hipoclorito de sódio utilizado como solução irrigante do sistema de canais radiculares. Utilizaram o hipoclorito de sódio a 0,5; 1,0; 2,5 e 5,25% por 0, 10, 20, 30, 60 e 120 segundos contra *Actinomyces naeslundii*, *Candida albicans* e *E. faecalis*, sendo esse último avaliado também nos intervalos de 1, 2, 5, 10 e 30 minutos. Todas as concentrações do hipoclorito de sódio estudadas reduziram o número de microrganismos após 10 segundos para *A. naeslundii*, *C. albicans*. O *E. faecalis* demonstrou ser mais resistente, sendo o número de Unidades Formadoras de Colônias reduzidas a zero após 30 minutos com a concentração de 0,5%, 10 minutos a 2,5%, e 2 minutos a 5,25%. Os autores concluíram que a associação do *E. faecalis* com lesões endodônticas persistentes pode estar relacionada à maior resistência dessa espécie ao hipoclorito de sódio, o que não acontece com *A. naeslundii* e *C. albicans*.

Ferrari, Bombana e Cai (2005) usaram métodos de cultura para detectar a presença de enterococcus, bactérias entéricas e leveduras em 25 canais radiculares com infecção endodôntica primária, antes e após o preparo de canais radiculares. Microrganismos foram isolados em 23 canais radiculares (92%) sendo que 22%

deles estavam infectados por *Enterococcus* (13%), bactérias entéricas (4%) ou leveduras (4%).

Stuart et al. (2006) discutiram a presença do *E. faecalis* em casos de insucesso do tratamento endodôntico. O *E. faecalis* está presente nas infecções endodônticas entre 24 e 77%. Essa ocorrência pode ser justificada pela alta virulência desse microrganismo incluindo a alta capacidade que possui em penetrar nos túbulos dentinários e ser resistente à falta de nutrientes. Os autores relatam que a realização de uma técnica eficaz de instrumentação em combinação com soluções irrigantes com efeito antibacteriano, como a clorexidina ou o hipoclorito de sódio, podem contribuir para a eliminação ou diminuição do *E. faecalis* durante o tratamento endodôntico.

Zoletti, Siqueira JR e Santos (2006) avaliaram a prevalência do *E. faecalis* em dentes tratados endodonticamente com ou sem lesões periapicais. A identificação do *E. faecalis* foi realizada por meio de PCR ou por procedimentos convencionais de cultura. O *E. faecalis* foi detectado pelo PCR em 40/50 dos dentes (80%), enquanto a cultura revelou a ocorrência desta espécie em 8/50 dos dentes (16%). O método de identificação por PCR foi significativamente mais eficaz do que o método de cultura convencional ($p < 0,001$). De 27 dentes tratados sem lesão perirradicular o *E. faecalis* foi encontrado em 22 casos (81,5%) por PCR e em cinco casos (18,5%) pela cultura. De 23 dentes tratados com lesão perirradicular o *E. faecalis* foi identificado em 18 casos (78%) por PCR e em três casos (13%) pela cultura. Nenhuma diferença significativa foi observada ao comparar a ocorrência do *E. faecalis* nos dentes com ou sem lesão perirradicular ($p > 0,05$). Embora esses métodos evidenciem a presença do *E. faecalis* como principal causa para a falha no tratamento endodôntico, outros fatores relacionados necessitam ainda ser esclarecidos antes que essa suposição seja levada em consideração no âmbito clínico.

2.2 Substâncias químicas auxiliares

A desinfecção do sistema de canais radiculares é alcançada durante a fase de preparo do canal, por meio da ação da instrumentação mecânica em estreita associação às substâncias químicas auxiliares. Enquanto a etapa mecânica visa o preparo e a obtenção da forma do canal radicular, a química auxilia na desinfecção e limpeza do sistema de canais radiculares. (PAIVA; ANTONIAZZI, 1991).

Várias soluções químicas coadjuvantes do preparo químico-cirúrgico de canais radiculares têm sido defendidas e empregadas.

Soluções de hipoclorito de sódio, em diferentes concentrações, são as substâncias químicas mais empregadas em todo mundo como auxiliar da Instrumentação de canais radiculares.

Primeiramente o hipoclorito de sódio foi utilizado como anti-séptico e foi recomendada por Labaraque (1820). Esse químico francês obteve o hipoclorito de sódio com 2,5% de cloro ativo e essa solução passou a ser utilizada como anti-séptico em feridas. Estudos de Koch e Pasteur levaram o hipoclorito de sódio a ser aceito como desinfetante desde os fins do século 19 (ZEHNDER, 2006).

Dakin (1915), químico norte americano, durante a Primeira Guerra Mundial, observou que ao tratar feridas de guerra com hipoclorito de sódio a 2,5%, obtinha-se anti-sepsia, porém a cicatrização da ferida era demorada. Para verificar o que ocorria, ele diluiu a solução até a concentração de 0,5% de cloro ativo e utilizou-a com a mesma finalidade. Suas observações puderam constatar que nessa concentração obtinha-se o mesmo resultado, ou seja, anti-sepsia da ferida, no entanto a cicatrização era lenta. Ele observou que a demora de cicatrização era

devido ao grande teor de hidróxido de sódio presentes nas soluções de hipoclorito, independente de sua concentração. Com base nesse raciocínio, Dakin neutralizou a solução de hipoclorito de sódio a 0,5% cujo pH era 11 com ácido bórico (0,4%). Isso possibilitou uma solução de hipoclorito de sódio com pH próximo do neutro. Desse modo, com o uso de uma solução de hipoclorito de sódio com pH próximo do neutro conseguiu-se desinfecção das feridas sem o efeito indesejável da ação das hidroxilas sobre os tecidos vivos. Com base nessa pesquisa Dakin propôs uma nova solução de hipoclorito de sódio a 0,5% de cloro ativo neutralizado com ácido bórico. Essa nova solução ficou conhecida como solução de Dakin.

A solução de hipoclorito de sódio teve sua grande divulgação quando Walker (1936) publicou um artigo sobre a capacidade de limpeza promovida pelo hipoclorito de sódio a 5% na desinfecção de canais radiculares portadores de polpa necrótica. Propôs o uso de uma solução de hipoclorito de sódio a 5,0 % (soda clorada) para a instrumentação dos canais radiculares de dentes despolpados. A partir de então soluções de hipoclorito de sódio em varias concentrações foram sugeridas para uso endodôntico.

As substâncias químicas são empregadas com a finalidade de promover a dissolução de tecidos vivos ou necrosados, tentar eliminar ou reduzir microrganismos, lubrificação durante a ação de corte dos instrumentos, remoção de *smear layer*. Para tanto devem possuir propriedades físicas e químicas para essas finalidades. Dentre os principais requisitos que uma substancia química deve ter estão: atividade antimicrobiana, ação de solvência dos tecidos, tensão superficial, poder de limpeza e tolerância tecidual (PAIVA; ANTONIAZZI, 1991).

2.2.1 Hipoclorito de sódio /Ação de dissolução dos tecidos

A capacidade das soluções de hipoclorito de sódio em dissolverem tecidos orgânicos, seja ele vital ou não é de fundamental importância para a eleição de uma determinada substância para a fase de preparo químico-cirúrgico ou mesmo, para as manobras de irrigação aspiração.

Siqueira (2004) avaliou a capacidade de dissolução de polpas de dentes bovinos com clorexidina a 2% em comparação a soluções de hipoclorito de sódio sob diferentes concentrações e valores de pH diante de duas diferentes temperaturas. Os resultados mostraram que as soluções de hipoclorito de sódio sofrem influência do pH, temperatura e concentração no agir sobre a dissolução do tecido pulpar. A clorexidina a 2%, bem como, as soluções de hipoclorito de sódio a 0,5% (pH 7 e temperatura entre 27 e 37 °C), não dissolveram o tecido durante o tempo experimental de 120 minutos. Em pH 11, soluções menos concentradas de hipoclorito de sódio mantiveram sua capacidade de dissolução tecidual. O aquecimento de soluções de hipoclorito de sódio aumenta sua eficácia sobre a dissolução de tecidos. Recomenda o autor que para se potencializar o efeito de dissolução de tecidos por soluções de hipoclorito de sódio, deve-se optar em primeiro lugar pela elevação do pH, seguido do aquecimento da mesma e por último aumentar sua concentração.

Também Okino et al. (2004) avaliaram a capacidade de dissolução de matéria orgânica comparando a ação de soluções de hipoclorito de sódio a 0,5; 1 e 2,5% em relação a duas formulações de clorexidina (solução aquosa e gel a 2%), tendo por controle a água destilada. Utilizando como substrato polpas de origem

bovina, verificaram que a capacidade de dissolução do tecido pulpar pela clorexidina foi semelhante à da água e que o aumento na concentração nas soluções de hipoclorito conduziu a maior velocidade de dissolução do tecido pulpar bovino.

Sirtes et al. (2005) para testarem os efeitos do pré-aquecimento de soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl) comercialmente disponíveis sobre a dissolução pulpar e capacidade antibacteriana, usaram um dispositivo de aquecimento da seringa contendo 10 mL de soluções de NaOCl a 5,25; 2,62; e, 1%. Essas soluções foram estabilizadas durante 60 minutos a 20, 45, e 60 °C e foram avaliadas utilizando titulação de iodo/tiosulfato. A dissolução de polpas humanas foram analisadas na última temperatura e comparadas com os valores correspondentes aos de solução de NaOCl 5,25% a 20 °C. A eficácia antibacteriana foi verificada utilizando uma cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC29212) após 48h de incubação, sendo as substâncias comparadas a 45 e 20 °C. Usando um dispositivo na seringa a solução a 20°C chegou até 45 °C e 60 °C em 7 e 20 min, respectivamente. Os resultados mostraram que o NaOCl 1% a 45 °C dissolveu o tecido pulpar tão bem quanto a solução de NaOCl 5.25% em 20°C, enquanto que a solução de NaOCl 1% foi significativamente mais eficaz ($p < 0,05$). Houve aumento de 100 vezes na eficácia antibacteriana nas soluções a 45 e 20°C.

Segundo Clarkson et al. (2006), a solução de Milton e alvejantes caseiros são as soluções de hipoclorito de sódio comumente usadas na Austrália, sendo a primeira mais usada. Recentemente a Therapeutic Goods Administration (TGA) aprovou a disponibilidade de soluções de hipoclorito de sódio contendo tensoativos. Com a proposta de avaliar a performance dessas novas substâncias aprovadas pelo TGA, os autores compararam: Hypochlor 1% e a 4% forte e uma marca de alvejante caseiro White King 1% e a 4% com a solução de Milton. 10 amostras de polpas de

dentos suínos em iguais dimensões foram imersas em cada solução. O tempo de dissolução pulpar foi medido e analisado estatisticamente. Os resultados demonstraram que White King 4% mostrou menor tempo de dissolução, seguido pelo Hypochlor 4% forte. O alvejante White King 1% e o Hypochlor 1% tiveram o tempo de dissolução 3 vezes mais longo para dissolver completamente as amostras de polpa que suas respectivas soluções a 4%, enquanto que a solução de Milton teve o tempo 10 vezes mais longo. Os autores concluíram que grandes concentrações promovem dissolução mais rápida dos tecidos e que soluções a 1% com tensoativos e com altas concentrações de hidróxido de sódio dissolvem mais rapidamente o tecido e que foram significantes mais efetivas que a solução de Milton.

2.2.2 Hipoclorito de sódio /Tolerância tecidual

Todas as substâncias desinfetantes apresentam algum nível de toxicidade para células vivas, e em relação aos microrganismos não são seletivas. Os efeitos de uma substância sobre os tecidos dependem de seu próprio grau de toxicidade, de sua concentração, do tempo e da área de contato com os tecidos. Dentre outras formas, o potencial irritativo dessas soluções pode ser medido pelo silêncio biológico entre as sessões e, após a obturação.

O hipoclorito de sódio é a substância química auxiliar mais popular e mais usada em função de suas propriedades físico-químicas e antibacterianas (ZEHNDER, 2006). Quando usado em altas concentrações é sabido que dissolve

bem remanescentes orgânicos e desinfeta o sistema de canais radiculares (CLARKSON et al., 2006). NaOCl é uma solução alcalina com um pH de, aproximadamente, 11 a 12 e provoca lesões principalmente por oxidação de proteínas.

Pashley et al. (1985) mostraram que mesmo em diluições baixas como 1:1000, NaOCl causa completa hemólise de glóbulos vermelhos, *in vitro*. Observaram grave inflamação e destruição celular em todos os tecidos testados exceto naqueles fortemente queratinizados. Outros efeitos tóxicos dessa solução incluem irritação da pele e ulceração, de células endoteliais fibroblásticas, ferimentos e inibição da migração neutrofílica (GATOT et al. ,1991).

Serper et al. (2001) compararam *in vitro* com auxílio de MEV a capacidade de remover *smear layer* e a citotoxicidade de soluções de NaOCl, EDTA e Oxidative Potential Water (OPW). 15 incisivos superiores humanos com único canal foram separados em três grupos. Os canais radiculares foram alargados até limas K de número 60 e irrigados com: (a) NaOCl seguido pelo OPW; (b) OPW durante e depois da instrumentação e (c) NaOCl seguido por EDTA e NaOCl. O efeito desses irrigantes sobre a *smear layer* foi avaliado por MEV. A citotoxicidade, desses irrigantes foi avaliada por ensaios de MTT colorimétrico. Constataram que a combinação de NaOCl e OPW, bem como a aplicação do OPW sozinho, não conseguiu remover a *smear layer* do terço apical, sendo que a combinação de EDTA e NaOCl alcançaram completa remoção. OPW, quando usada durante e depois da instrumentação, removeu melhor e foi mais eficaz que NaOCl seguido pelo OPW. EDTA foi mais citotóxico em todas as concentrações testadas, quando comparadas com OPW e NaOCl. Em conclusão: (1) OPW foi menos citotóxico do que outros irrigantes, mas não efetivamente capaz de remover a camada residual de *smear*

layer, (2) o tratamento com EDTA seguido de NaOCl removem eficientemente a *smear layer*, mas a sua citotoxicidade deve ser considerada durante a terapia endodôntica.

Nunes (2002) avaliou o potencial irritativo e sua interferência nos processos inflamatórios e reparacional testando, sobre o tecido conjuntivo de ratos, quatro substâncias: hipoclorito de sódio a 0,5%, EDTA a 17% e ácido cítrico a 25 e 50%, nos períodos experimentais de 1, 7, 14 e 28 dias. Decorridos os tempos predeterminados, os animais foram ortotanzados, retirando-se deles amostras de tecido, as quais, após tratamento histológico foram analisadas morfológica e histometricamente. O exame morfológico mostrou que, aos de 28 dias, todas as feridas encontravam-se reepitelizadas, com fenômenos celulares somente no tecido conjuntivo subjacente. Entretanto, o tratamento estatístico, pela análise de variância, seguida do teste de Tukey dos achados histométricos, demonstrou claramente, quando comparadas ao grupo controle, que todas as substâncias testadas influíram no processo reparacional, retardando-o, sendo que, nesse mister, os ácidos pelo seu potencial irritativo, provocaram maior atraso desse processo.

Com o objetivo de avaliar a citotoxicidade de seis substâncias químicas utilizadas como irrigantes sobre cultura de fibroblastos gengival, Barnhart et al. (2005) utilizaram o CyQuant como dosador. Fibroblastos humanos foram cultivados no meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle (DMEM) a 37 °C e 5% de CO² contendo 10% de soro bovino. As células foram divididas e cultivadas em 96 placas e incubadas durante 24 h para permitir a fixação. As seguintes substâncias foram testadas em várias concentrações: hipoclorito de sódio (NaOCl); iodo - iodeto de potássio (IKI); Betadine matagal (BS), hidróxido de cálcio [Ca (OH)₂]; dióxido de cloro (SCD) e (DMEM- controle positivo). Os grupos experimentais foram

comparados pela diferença logarítmica entre as concentrações clínicas e LD50 de um determinado irrigante. Os resultados mostraram que IKI e $[Ca(OH)_2]$; foram significativamente menos citotóxicas do que SCD, NaOCl, e BS. Em conclusão, IKI e $Ca(OH)_2$ são bem tolerados por fibroblastos gengivais de origem humana.

2.2.3 Hipoclorito de sódio / Atividade antimicrobiana

Vários estudos demonstram que o hipoclorito de sódio apresenta excelente atividade antibacteriana. Alguns fatores podem interferir na atividade antimicrobiana dessas substâncias, tais como; pH da solução, concentração, temperatura e a relação de volume da solução e a massa de tecido vivo ou necrosado. O NaOCl apresenta excelente atividade antimicrobiana frente a microbiota endodôntica (BYSTRÖM; SUNDQVIST, 1985; FOLEY et al., 1983; HAUMAN; LOVE, 2003). Sua ação antimicrobiana está relacionada com a formação de compostos contendo cloro ativo, como o ácido hipocloroso e o íon hipoclorito (LOPES; SIQUEIRA JR, 2004). O cloro ativo, liberado pelo ácido hipocloroso, ao entrar em contato com as proteínas tissulares, origina nitrogênio, formaldeído e acetaldeído. Como consequência ocorre a quebra da cadeia de peptídeos resultando na dissolução das proteínas. Durante esse processo, hidrogênio do grupamento amina (-HN) é substituído por cloro (-NCL) formando cloraminas, compostos de alta toxicidade, os quais interferem no metabolismo celular (HAUMAN; LOVE, 2003).

Aun (1979) comparando a ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio em diferentes concentrações, associado ou não, ao uso de instrumentos, mostrou que

essa substância química, teve sua capacidade desinfetante potencializada pela ação dos instrumentos.

Bystrom e Sundqvist (1985) comparam *in vivo* a capacidade antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 0,5% e a 5% e do hipoclorito de sódio a 5% associado ao EDTA, em 60 dentes humanos unirradiculares portadores de necrose pulpar. Os autores concluíram que o emprego do hipoclorito de sódio em associação ao EDTA apresentou os melhores resultados, pelo fato de ter ocorrido maior remoção da camada residual de magma das paredes do canal radicular, promovendo ação mais efetiva do hipoclorito de sódio a 5%. Em relação ao uso isolado das soluções de hipoclorito de sódio a 0,5% e 5%, os resultados não mostraram diferença significativa.

Marques (1997) avaliou o efeito antimicrobiano de diferentes concentrações de soluções usadas como auxiliares da instrumentação à base de clorexidina, solução de hipoclorito de sódio a 1% e um detergente (lauril sulfato de sódio), frente aos seguintes microrganismos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e uma cultura mista. A análise dos resultados mostrou que a solução de clorexidina na concentração de 1% foi mais efetiva que a mesma solução a 0,5% e 0,12%. Já a solução de hipoclorito de sódio a 1% foi a única que apresentou atividade antibacteriana sobre *Enterococcus faecalis*; e a espécie *Candida albicans* mostrou-se resistente a todas as soluções de clorexidina e ao hipoclorito de sódio a 1%. Em relação ao detergente, o mesmo foi incapaz de inibir o crescimento de todos os microrganismos indicadores. Vale salientar ainda que, todas as soluções analisadas, exceto o detergente, mostraram ação antimicrobiana

predominantemente bacteriostática; e fatores como concentração e tempo de contato são capazes de influenciar a atividade antimicrobiana.

Siqueira Jr. et al. (2000) analisaram sobre o *E. faecalis* o efeito antimicrobiano *in vitro* produzido pelo emprego de soluções de hipoclorito de sódio a 1, 2,5 e 5,25%, após o preparo químico-cirúrgico de canais radiculares. Amostras microbiológicas de todos os canais radiculares foram tomadas antes e após o preparo. Os resultados mostraram que todas as soluções testadas reduziram significativamente o número de células bacterianas nos canais radiculares. Os autores sugeriram ainda que a renovação e o volume da solução empregada são fatores capazes de manter a efetividade antimicrobiana da solução, compensando os efeitos irritantes quando da utilização de concentrações mais elevadas.

Sena (2004) com o objetivo de investigar a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio (NaOCl) 2,5 e 5,25% e da clorexidina (CLX) 2,0% tanto na forma gel como líquida utilizados como substâncias químicas auxiliares durante o preparo químico- cirúrgico empregou biofilmes de espécie única. Biofilmes simples dos microrganismos *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Candida albicans* foram formados em filtros de membrana de nitrato de celulose sobre placas de agar-sangue. Os biofilmes foram imersos nas substâncias químicas por 30 s, 5, 10, 15, 30 e 60 min com ou sem agitação mecânica e em seguida transferidos para meios de cultura contendo neutralizadores das substâncias químicas. A seguir, foram realizadas diluições em série, alíquotas foram inoculadas em placas de agar-sangue, incubadas e após crescimento, as unidades formadoras de colônias foram quantificadas por meio de suas diluições. O hipoclorito de sódio (NaOCl) 5,25% eliminou todos microrganismos testados em 30 segundos

de contato. Frente aos microrganismos anaeróbios estritos, todas as substâncias químicas obtiveram o mesmo desempenho, sendo efetivas em 30 segundos. A solução salina permitiu o crescimento microbiano de todas as cepas. Concluiu-se que NaOCl a 5,25% foi a substância química testada mais efetiva, seguido pela CLX líquida 2%. Os resultados demonstraram que a efetividade do agente antimicrobiano depende dos microrganismos que constituem o biofilme, do tempo de contato desses com o a substância química, da ação ou não da agitação mecânica e forma de apresentação da substância.

Khademi, Mohammadi e Havaee (2006) estudaram *in vitro* substantividade dos seguintes antimicrobianos: digluconato de clorexidina 2% (CHX), 100 mg ml⁻¹ doxiciclina e do hipoclorito de sódio 2,6% (NaOCl) em dentina de raízes bovinas. 80 tubos de dentina bovina foram preparados e infectados, *in vitro*, por 14 dias com *Enterococcus faecalis*. Os espécimes foram divididos em 5 grupos: doxiciclina HCl; CHX NaOCl; tubos de dentina infectados (controle positivo) e tubos esterilizados de dentina (controle negativo). Pó de dentina foi coletado após uso de broca esférica e colocado em TSA. Após o cultivo, o número de unidades formadoras de colônias (UFC), foi contado. Em todos os grupos experimentais, o número de UFC foi mínimo nas primeiras culturas, e os resultados obtidos foram significativamente diferentes nas culturas em qualquer período de tempo ($p < 0,05$). Na primeira cultura, os grupos: NaOCl e doxiciclina HCl mostrou o menor e o maior número de UFC, respectivamente. Em cada uma, o número de UFC aumentou significativamente pelo tempo-lapso ($p < 0,05$). Concluindo, a substantividade da CHX foi significativamente maior do que a do NaOCl e da doxiciclina.

Siqueira Jr et al. (2007) realizaram um estudo clínico para comparar a eficiência de hipoclorito (NaOCl) 2,5% e digluconato de clorexidina 0,12% como

irrigante na redução da população bacteriana em canais radiculares infectados de dentes com lesão apical. 32 dentes com infecções crônicas primárias e periodontite apical foram selecionados. Amostras bacterianas foram tomadas ao nível basal (S1) e depois do preparo químico-cirúrgico usando NaOCl (n = 16) ou clorexidina (n = 16) como irrigantes (S2). Bactérias cultiváveis recuperadas de canais radiculares infectados na 2ª etapa foram contadas. Isolados das amostras (S2) foram identificados. Em S1, todos os canais tiveram como o número médio de bactérias por canais $7,32 \times 10^5$ para o NaOCl grupo e $8,5 \times 10^5$ para o grupo clorexidina. Em S2, o número médio de bactérias nos canais irrigados com NaOCl e clorexidina foi $2,35 \times 10^3$ e 2×10^2 respectivamente. 6 dos 16 (37,5%) canais (S2) do grupo de (S2) e 8 de 16 (50%) dos canais do grupo da clorexidina produziram culturas negativas. O preparo químico-cirúrgico usando as soluções reduziu substancialmente o número de bactérias nos canais. Não houve diferença significativa entre o NaOCl e clorexidina no que diz respeito ao número de casos, produzindo culturas negativas ($p = 0,72$) ou redução bacteriana quantitativa ($p = 0,609$). Os grupos irrigados com NaOCl ou clorexidina revelou um número médio de 1,3 e 1,9 espécies bacterianas cultiváveis por canais, respectivamente.

2.2.4 Associações

De modo geral, uma solução irrigante deveria apresentar elevada capacidade de umectação, poder de limpeza, capacidade antimicrobiana, ação de solvência e tolerância tecidual. Porém nem todas as substâncias possuem todos os

requisitos reunidos em um só produto, assim, muitas vezes faz-se necessária a utilização de materiais ou associações de soluções irrigantes para se obterem os efeitos desejáveis.

Algumas substâncias são recomendadas para uso associado às soluções de hipoclorito de sódio durante o preparo químico-cirúrgico, reagindo com elas ou sendo utilizadas separadamente, dentre essas se encontram os peróxidos, agentes quelantes ou descalcificantes.

Entre as associações mais conhecidas e utilizadas estão: detergente aniônico + EDTA; detergente catiônico+ EDTA = EDTAC e peróxido de uréia + Tween 80 + Carbowax neutralizado com hipoclorito de sódio 0,5% (Endo PTC).

Decorrente da utilização de instrumentos endodônticos sobre a parede do canal radicular, há a formação de magma que pode obliterar os túbulos dentinários. Com isso o processo de sanificação fica comprometido, pois a permeabilidade dentinária diminui, não permitindo a penetração dos fármacos após o preparo químico cirúrgico.

Callahan (1894) preconizou o uso de um ácido forte, o ácido sulfúrico a 40% para a instrumentação de canais atresiadados.

Prinz (1912) propôs o uso de um ácido menos agressivo, o orto-fenol-sulfúrico e, a seguir, Buckley (1926) preconizou para irrigação de canais atrésicos o ácido fenol sulfônico a 80 %. Ele preconizava que a solução de hipoclorito de sódio (Licor de Labarraque) deveria ser usada somente para clarear os dentes. Nos casos de polpa mortificada, ele utilizava o ácido fenol sulfônico a 80%. O autor fez ainda severas críticas a respeito da utilização do ácido sulfúrico como irrigante de canais radiculares devido aos violentos danos que provoca aos tecidos periapicais, ressaltando que o ácido por ele proposto era menos irritante. A neutralização desses

ácidos era comumente feita com uma solução de bicarbonato de sódio 10%. Por mais de 50 anos, os cirurgiões-dentistas utilizaram um ácido forte para a instrumentação de canais atrésicos. Essa fase teve seu fim, após a proposta de ØSTBY (1957).

Ostby (1957) propôs o uso de um sal derivado de um ácido fraco e orgânico, o etileno diamino tetra acético sal dissódico (EDTA), pois pela sua ação quelante, permite formular uma solução auxiliar para a instrumentação dos canais radiculares atresizados. Essa solução, na concentração e no pH indicados pelo o autor é biologicamente compatível aos tecidos da polpa e periápice. A solução proposta por Ostby (1957), ou seja, o EDTA tem a seguinte composição: EDTA sal dissódico 17g, água destilada 100 ml, NaOH 5N qsp para obter pH 7,3. Ostby (1957) e Hill (1959) adicionaram o tensoativo Cetavlon (brometo de cetiltrimetilamônio) à solução de EDTA, formando, assim, uma associação conhecida como EDTAC.

Naumovich (1963), baseado no fato de que a tensão superficial é um dos mais importantes fatores que determinam o poder de uma determinada substância de penetrar e se espalhar sobre uma superfície, estudou duas propriedades químicas, a tensão superficial e o pH, de vinte e duas substâncias utilizadas na terapêutica endodôntica. O EDTA apresentou pH 7,28 e tensão superficial 54,0 dinas/cm; para a solução de EDTAC, o pH foi de 7,4 e a tensão superficial foi de 39,7dinas/cm. O pesquisador ainda sugere que as drogas que apresentam o pH muito baixo ou muito alto deveriam ser neutralizadas após o uso.

Weinreb e Meier (1965) utilizaram 160 dentes anteriores humanos para comparar a eficiência do EDTA e do ácido sulfúrico utilizados isoladamente e em associação com a instrumentação no alargamento dos canais radiculares. O resultado desse experimento mostrou que a solução de EDTA utilizada isoladamente

ou em combinação com a instrumentação é muito mais eficaz que o ácido sulfúrico no processo de alargamento do canal. Os autores aconselham a troca constante do EDTA a cada três minutos, para que ele seja mais eficaz no preparo do canal radicular.

Heling, Shapiro e Sciaky (1965) realizaram estudo comparativo entre a solução de EDTA e a do ácido clorídrico a 20% na remoção de cálcio das paredes dos canais radiculares. Eles concluíram que a solução de EDTA preconizada por Østby (1957) era tão efetiva quanto a de ácido clorídrico a 20%. Assim, o uso de um sal de ácido orgânico fraco capaz de realizar a quelação de íons cálcio é vantajoso para substituir os ácidos fortes e corrosivos. A biocompatibilidade do EDTA salienta sua preferência como agente quelante.

Na área odontológica, poucas tentativas foram realizadas no sentido de se empregar novas soluções quelantes, a não ser a proposta de Østby (1957) com as variações propostas por Hill (1959), Von Fehr e Østby (1963) o EDTAC e, (PAIVA; ANTONIAZZI 1991) o EDTA-T (EDTA + Tergentol).

Stewart, Kapsimalas e Rappaport (1969), associaram a propriedade quelante do EDTA e a propriedade anti-séptica do peróxido de uréia, e preconizaram um novo composto auxiliar de instrumentação, com a consistência de creme. o RC-Prep[®]. Contém 15% de EDTA, 10% de peróxido de uréia e carbowax em quantidade suficiente para chegar à consistência de creme. Os autores verificaram, ainda, que o peróxido de uréia não permanecia estável em solução aquosa, e que o EDTA era insolúvel em água. Dessa forma, o Carbowax (polietilenoglicol) foi utilizado como veículo, pois permitia formar um creme, ao qual eram incorporados tanto o peróxido de uréia como o EDTA, em forma de pó. Esse creme apresenta-se solúvel em água, amolece à temperatura do corpo e apresenta-se estável.

Paiva e Antoniazzi (1973) recomendam o uso do creme de Endo-PTC no interior dos canais radiculares, associado ao líquido de Dakin. O creme proposto apresenta, em sua composição, o peróxido de uréia, o Tween 80 e o carbowax. Em 1984, esses autores basearam sua justificativa para a substituição do EDTA presente na fórmula de Stewart; Kapsimalas e Rappaport (1969) no fato de que ele seria inativado pelo hipoclorito de sódio, deixando o quelante sem função.

A partir da idealização do creme Endo PTC, vários autores iniciaram estudos das diversas propriedades do creme, principalmente o aumento da permeabilidade dentinária do sistema de canais radiculares.

O creme de Endo PTC usado com o hipoclorito de sódio é uma das substâncias químicas auxiliares mais utilizadas nas faculdades brasileiras de acordo com o estudo de Albergaria(1989).

Quando essa substância entra em contato com hipoclorito de sódio a 0,5% ocorre uma reação entre o peróxido de uréia e o hipoclorito, liberando oxigênio nascente, cloro ativo, ácido hipocloroso, entre outras substâncias. O fato de ser uma substância cremosa faz com que a ação dos instrumentos se dê com menor atrito, pois o carbowax promove ação lubrificante. A efervescência que ocorre durante a reação do hipoclorito de sódio a 0,5% com o peróxido de uréia faz com que as raspas da dentina, restos de polpa viva e morta sejam levados para a câmara pulpar e de lá aspiradas por cânulas. (PAIVA; ANTONIAZZI, 1991).

Moura et al. (1988) estudando a capacidade do creme de Endo PTC reagindo com o líquido de Dakin em aumentar a permeabilidade dentinária *in vivo* e *in vitro*, utilizando o corante azul-de-metileno, verificaram não haver diferença estatisticamente significativa entre os métodos. Constataram, porém, um grande aumento da permeabilidade dentinária quando do uso do referido creme.

Robazza, Paiva e Antoniazzi (1981) estudaram *in vitro* as possíveis variações da permeabilidade em dentes humanos, quando do uso de água oxigenada, associação Tergentol-Furacin, Endo PTC e água destilada quando do preparo do canal. Grupos de 10 dentes unirradiculares hígidos recém-extraídos foram selecionados para cada substância química. Após o preparo químico-cirúrgico os dentes foram imersos em azul de metileno a 0,5% durante 24 horas e seccionados no sentido méso-distal e a penetração do corante foi determinada pela leitura de áreas. O Endo PTC foi o fármaco que provocou maior aumento da permeabilidade na região apical da raiz.

Yamada et al. (1983) por meio de MEV compararam a capacidade de remover o magma dentinário de várias soluções quelantes, associadas ou não ao hipoclorito de sódio (solução salina, hipoclorito a 5,25%, EDTA a 17% e a 8,5%, e ácido cítrico. Os melhores resultados foram obtidos quando utilizaram, para irrigação final, 10 mL de EDTA a 17% seguidos de 10 mL de hipoclorito de sódio a 5,25%.

Prokopowitsch, Moura e Muench (1989) avaliaram cinco substâncias químicas auxiliares (solução fisiológica, associação de Tergentol-Furacin, hipoclorito de sódio a 1%, Endo PTC + hipoclorito de sódio a 0,5%, associação de ácido etileno-diamino-tetraacético a 17% (EDTA) e Tergentol qsp 100 mL com (pH 7,0) durante o preparo químico-cirúrgico do canal em dentes humanos extraídos quanto à permeabilidade no terço apical. Os autores concluíram que o Endo PTC reagindo com a solução de hipoclorito de sódio a 0,5% promoveu o maior aumento da permeabilidade dentinária no terço estudado.

Gavini (1992) avaliou *in vitro* a limpeza da parede do terço apical do canal radicular, após o preparo químico-cirúrgico verificando a produção do magma dentinário sobre as paredes do canal radicular, pois essa prejudica a limpeza e

desinfecção dos túbulos dentinários, além de diminuir a permeabilidade da dentina interferindo na adesividade e selamento da obturação. Após o estudo das fotomicrografias, o autor concluiu que dentre as substâncias testadas (soro fisiológico, EDTA 17%, ácido cítrico 25% e hipoclorito de sódio 1%) a associação de 6 mL de EDTA 17% e 6 mL de hipoclorito de sódio a 1% proporcionou superfície dentinária mais livre de microsujidades, e que o aumento do volume das soluções irrigantes, auxiliam na visibilidade de maior número de túbulos dentinários.

Gavini (1994) avaliou, por meio de microscopia eletrônica de varredura, a capacidade de dois sistemas de irrigação associados a diferentes agentes irrigantes na eliminação de microsujidades. Os sistemas foram utilizados logo após o preparo químico-cirúrgico do canal radicular, no qual foram empregadas limas K-Flex e creme Endo PTC, neutralizado pelo hipoclorito de sódio a 1%. O autor não verificou diferença entre os métodos de irrigação e que o EDTA a 17% assim como o ácido cítrico a 25% foram os que mostraram melhor remoção do magma dentinário.

Pesce; Medeiros; Bombana (1997) demonstraram a importância do uso do creme Endo PTC durante o preparo químico-cirúrgico e irrigação final com solução detergente/anti-séptico. O selamento apical de canais radiculares de 20 dentes foi avaliado. Os dentes foram divididos em 2 grupos de acordo com a solução irrigadora final: solução detergente/anti-séptico (Grupo A) e hipoclorito de sódio a 1% (Grupo B). Os espécimes foram imersos em azul-de-metileno e a infiltração medida em estereomicroscópio. Os autores demonstraram a importância do creme Endo PTC como coadjuvante no preparo químico-cirúrgico e da irrigação final com solução detergente/anti-séptico, que foi a solução que resultou em menor infiltração.

Kuga et al.(1999) analisaram a influência da irrigação final após o preparo químico-cirúrgico auxiliado pelo creme de Endo PTC. Para tanto, foram utilizadas

quarenta raízes distais de molares inferiores, instrumentadas pela técnica escalonada regressiva e a cada troca de calibre de instrumento os canais eram preenchidos com Endo PTC e irrigados com hipoclorito de sódio a 1%. Após a conclusão da instrumentação, as raízes foram divididas em quatro grupos experimentais, em função do tipo de irrigação final: G1 – nenhuma toaleta final; G2 – EDTA a 17% durante três minutos e toaleta final com clorexidina a 2%; G3 – EDTA a 17% ultra-sonificado por um minuto e G4 – EDTA a 17% por três minutos. Após impermeabilização das raízes, essas foram obturadas. Para se determinar a infiltração marginal foi utilizado com corante o azul-de-metileno a 2%, por sete dias em temperatura ambiente. Após esse período, as raízes foram desgastadas longitudinalmente e com auxílio de um perfilômetro, mensuradas. Não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos experimentais ($p > 0,05$).

A ação inflamatória sobre o tecido conjuntivo do olho de coelho, do Endo PTC reagindo com o Líquido de Dakin, irrigação final com detergente-Furacin, seguido ou não de medicação tópica com antibiótico-corticosteróide foi observada por Bombana et al. (1974) em comparação com a soda clorada alternada com a água oxigenada. O Endo PTC se mostrou bastante compatível com o tecido conjuntivo do olho do coelho, provocando reação inflamatória discreta e minimizada quando sob medicação corticosteróide-antibiótico, enquanto que o hipoclorito de sódio a 5,25% alternado com água oxigenada, provocou reação inflamatória intensa.

Lauretti et al. (1975) observaram os resultados do Endo PTC, reagindo com o líquido de Dakin e irrigação final com Tergentol-Furacin quanto à reparação do tecido conjuntivo de ratos após 1, 7, 14 e 28 dias. Observaram, por meio de histometria, que não houve diferença estatisticamente significativa quando da

comparação com as feridas controle, onde os cortes circulares não receberam qualquer medicação.

A fim de esclarecer como as soluções de EDTA, EDTAC (EDTA + Cetavlon) e EDTA-T (EDTA + Tergentol) atuam sobre a microdureza da dentina, FAIRBANKS, (1995) realizou um estudo e concluiu que, dentre essas soluções, a de EDTAC era a mais eficaz na redução da microdureza da dentina. Avaliou a capacidade quelante do EDTA, EDTAC e do EDTA-T pela análise da microdureza da dentina radicular. No experimento, foi utilizado volume padronizado de 50 µl para cada solução a ser testada com tempo de ação de cinco minutos. Os resultados mostraram que todas as soluções quelantes analisadas reduzem a microdureza da dentina e que as soluções de EDTA e EDTA-T atuam de modo semelhante. A solução de EDTAC, conclui a autora, é a mais efetiva em reduzir a microdureza da dentina em relação às demais soluções estudadas.

Scelza, Antoniazzi e Scelza (2000) avaliaram a eficácia de três soluções irrigantes (ácido cítrico 10%, EDTA-T ou H₂O₂ 3%), na remoção de *smear layer*, após o preparo dos canais radiculares. Fotomicrografias realizadas por meio de MEV foram examinadas e contados o número de túbulos visíveis por três observadores. O maior número de túbulos visíveis nos três grupos experimentais foi observado no terço cervical, seguido do médio e do apical. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dentes irrigados com ácido cítrico ou EDTA-T, porém foram observados mais túbulos nesses grupos que quando comparados com peróxido de hidrogênio (H₂O₂).

Menezes, Zanet e Valera (2003) analisou a qualidade de limpeza e remoção da camada residual de *smear layer* das paredes dos canais, instrumentados e irrigados com NaOCl 2,5%, clorexidina 2% e solução salina. 50 dentes extraídos

foram utilizados neste estudo. Todos os dentes foram radiografados para determinar a existência de um único canal. As coroas foram cortadas no limite cervical e os canais radiculares foram instrumentados com limas K até o calibre 45. Durante o preparo químico-cirúrgico, irrigações foram feitas com as diferentes soluções avaliadas: Grupo 1: NaOCl 2,5% (10 raízes), Grupo 2: NaOCl 2,5% e EDTA17% durante 2 minutos (10 raízes), Grupo 3: 2,0% clorexidina 2,0% (10 raízes); Grupo 4: clorexidina 2,0% e EDTA17% durante 2 minutos (10 raízes); Grupo 5: solução salina (5 raízes); Grupo 6: solução salina e EDTA17% durante 2 minutos (5 raízes). Após a instrumentação, os canais foram irrigados com cada uma das soluções e as raízes foram cortadas no sentido vestibulo-lingual para análise em MEV dos terços cervicais, médios e apicais, a fim de verificar a presença ou ausência de resíduos de *smear layer*. Os resultados demonstraram que o uso do EDTA 7% diminuiu a *smear layer* significativamente ($p < 0,05$) em todas as soluções avaliadas em todos terços. Quando EDTA não foi utilizado, uma grande quantidade de *smear layer* foi observada apenas no grupo NaOCl. A utilização de EDTA 7% foi significativa para remoção de detritos exceto para o grupo de clorexidina. Concluiu-se, dessa forma que a utilização de EDTA17% é necessária para melhorar a limpeza dos canais radiculares.

Alguns autores acreditam que quando do emprego de substâncias químicas auxiliares de consistência cremosa no preparo dos canais radiculares, as mesmas contribuem para aumentar a condensação de debris, principalmente na região apical e, por ser difícil a sua remoção isso poderia comprometer o sucesso da terapia endodôntica (MCCOMB; SMITH 1975; SEN; PISKIN;DEMIRCI,1995).

Carvalho, Habitante e Lage-Marques (2005) com objetivo avaliar a alteração da permeabilidade dentinária promovida pela pelo Endo PTC, adotou como variação

o veículo de sua composição. Para analisar a permeabilidade dentinária foram selecionados vinte dentes unirradiculares divididos em dois grupos experimentais. O preparo químico cirúrgico foi realizado obedecendo aos princípios da técnica endodôntica, utilizando no Grupo 1 – Gel de Endo PTC e no Grupo 2 – Creme de Endo PTC. Após o preparo todos os espécimes foram submetidos ao protocolo para análise de infiltração do corante azul-de-metileno 0,5%, Para a leitura dos resultados os espécimes foram incluídos em blocos de resina e seccionados no sentido perpendicular ao longo eixo em amostras de 2 mm. Após a digitalização das amostras os resultados foram obtidos pela análise em programa de leitura de imagens. Os resultados experimentais dos Grupos 1 e 2 foram de 14,43% e 15,81%, respectivamente não se demonstrando diferenças estatisticamente significantes. Com base nos resultados, foi possível concluir que a variação do veículo do Endo PTC, gel ou creme, não promoveu alteração na propriedade avaliada.

Zehnder et al. (2005) avaliaram o efeito da redução da tensão superficial de agentes quelantes na capacidade de remoção de cálcio nas paredes de canais radiculares instrumentados. As soluções de EDTA 15%, ácido cítrico 10% e 1-hidroxietilideno-1, 1-bifonato 18% (HEBP) foram preparados com e sem adição de 1% de polisorbato (Tween 80) e 9% de propilenoglicol. A tensão superficial dessas soluções foi mensurada pelo método de Wilhelmy. Os canais instrumentados foram divididos aleatoriamente para receberem irrigação final com 5 mL de cada solução testada, por 1 minuto de aplicação. A concentração de cálcio foi avaliada por meio de espectrofotometria de absorção atômica. A incorporação de tensoativos reduziu os valores de tensão superficial de todas as soluções testadas em aproximadamente 50%. Entretanto, nenhuma das soluções com a tensão superficial reduzida pela

adição de tensoativos foi capaz de quelar mais íons cálcio dos canais radiculares que suas formulas equivalentes puras.

Dotto et al. (2007) compararam a eficácia de EDTA 24% gel, de EDTA 17% solução, na limpeza da dentina das paredes de canais radiculares após a instrumentação. Trinta caninos humanos foram divididos em três grupos de 10 dentes cada. No Grupo 1, a solução hipoclorito de sódio 1% foi utilizada para irrigar, no Grupo 2, hipoclorito de sódio 1% foi utilizado com solução EDTA 17%; e no Grupo 3 hipoclorito de sódio 1% foi utilizado com EDTA 24% - gel. Os resíduos de *smear layer* foram avaliados após instrumentação por MEV. Houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os Grupos 1 e 2, e também entre os Grupos 1 e 3. Não foi observada diferença entre os Grupos 2 e 3 ($p > 0,05$). Os resultados indicam que hipoclorito de sódio 1% sozinho não remove bem *smear layer* e que não houve diferença estatística entre EDTA e EDTA - gel na remoção de *smear layer*.

Na instrumentação do sistema de canais radiculares há formação magma dentinário que é constituído por uma mistura de raspas de dentina, restos do tecido pulpar e microrganismos. A presença desse magma dificulta o esvaziamento e descontaminação dos túbulos dentinários, e interfere na qualidade final da obturação endodôntica. Além disso, a presença desse resíduo favorece a permanência de microrganismos e continuidade do quadro infeccioso.

A capacidade de remoção do magma depende de fatores anatômicos como, o diâmetro e a curvatura dos canais radiculares, além de fatores relacionados aos instrumentos e principalmente de fatores ligados aos irrigantes, com destaque especial para o volume, natureza química do agente, regime de irrigação, tempo de contato e profundidade de penetração da agulha (INGLE ;TAINTOR1,985; GAVINI, 1992).

A anatomia do sistema de canais radiculares dita os parâmetros sob os quais o tratamento endodôntico será realizado e afeta as possibilidades de sucesso (RAM, 1977). Os dentes podem apresentar características comuns, bem como variações muito complexas. A existência do sistema de canais e não de um canal único, a presença de deltas apicais, de canais tortuosos, obstruções mecânicas (calcificações ou deposições cálcicas, etc.), são fatores que dificultam ou impedem o adequado tratamento endodôntico.

Canais radiculares que apresentavam obturação parcial e reações periapicais crônicas, demonstram que falhas dos tratamentos endodônticos ainda são constantes. Em um processo infeccioso de longa duração, microrganismos podem se propagar para ramificações, reentrâncias, istmos, deltas apicais e túbulos dentinários. Situadas nestas regiões elas podem não ser afetadas pelos instrumentos durante o preparo químico-cirúrgico (VALERA; LEONARDO; BONNETTI FILHO, 1988).

2.2.5 Irrigação-aspiração

Aliado à ação química, as substâncias auxiliares também atuam por meio da ação física durante a irrigação-aspiração que consiste na movimentação hidráulica de um líquido pelo canal radicular. A irrigação-aspiração é representada por uma corrente de líquido no interior da cavidade pulpar tendo ainda a ação de atrair por sucção, fluidos e partículas sólidas de uma cavidade (LOPES; SIQUEIRA JR, 2004). As manobras de irrigação-aspiração constituem parte essencial do tratamento

endodôntico e permitem substancial melhora nos padrões de limpeza (PAIVA; ANTONIAZZI, 1991; WALTIMO et al., 2005; BAUGH ; WALLACE, 2005,).

A eficácia da irrigação depende do mecanismo de ação e da habilidade do irrigante em contatar com várias estruturas, elementos, e materiais que devem ser removidos de dentro do sistema de canais radiculares (ROSENFELD, JAMES; BURCH, 1978; CHOW, 1983).

Baker et al. (1975) afirmaram que a remoção de detritos depende mais do volume do líquido do que do tipo de solução irrigadora .Quanto maior o volume do líquido empregado na irrigação maior a eficiência da limpeza. Entretanto o numero de irrigações para o mesmo volume de líquido terá mais efeito na dispersão das partículas do que o emprego desse mesmo volume em apenas uma irrigação (LOPES;SIQUEIRA JR, 2004)

Entretanto estudos prévios têm demonstrado que as técnicas convencionais de irrigação-aspiração durante o PQC não limpam inteiramente o sistema de canais radiculares (MOORER ; WELSSILINK, 1982; SALZGEBER ; BRILLAN, 1977; SVEC; HARRISON, 1977; SENIA; MARSHALL; ROSEN, 1971; MOONDNIK et al., 1979).

Os instrumentos rotatórios podem melhorar a remoção mecânica de tecidos moles remanescentes e microrganismos (PETERS; BARBAKOW, 2000), além disso, maior preparação apical pode melhorar a desinfecção apical, pois, maiores volumes de irrigantes podem chegar em áreas apicais. Entretanto a maneira mecanizada de instrumentação produz maior quantidade de *smear layer* infectado (LOPES;SIQUEIRA JR, 2004)

Peters e Barbakow (2000) avaliaram por MEV a presença de *smear layer* depois do PQC preparados com Lightspeed (LS) ou Profile (PF). Os irrigantes utilizados foram água (grupo A) e NaOCl 5,25% alternado com EDTA 17%(grupo B)

.No grupo que usou apenas água a pontuação do LS foi semelhante ao PF. Já no grupo B houve diferença significativa entre os terços médio e apical, mas não no terço coronal. Nenhuma técnica foi superior em remover *smear layer*, mas os canais preparados com LS e usando NaOCl alternado com EDTA mostraram-se mais livres de *smear layer*.

Durante o PQC a anatomia é um componente crítico na terapia endodôntica. Tradicionalmente são utilizadas agulhas e seringas para irrigação. Entretanto, dessa forma os agentes irrigantes só podem alcançar aproximadamente 10 mm adiante da ponta da agulha. Por isso, Mayer, Peters e Barbakow.(2002) observaram se o desenho geométrico dos canais radiculares afetaria a irrigação dos canais radiculares. Foram utilizados 6 grupos onde 1, 2 e 3 foram preparados com Profile (PF) e os grupos 4, 5 e 6 foram preparados com Lightspeed (LS) Todos os grupos foram irrigados com NaOCl 5,25% e EDTA 17%.os grupos 2 e 5 foram ultrasonicamente ativados e os grupos 3 e 5 apenas pelas limas de Ni-Ti. Os grupos 1 e 4 serviram como controle negativo. Os canais foram examinados em MEV e a camada de *smear layer* foi registrada em 3,6 e 9 mm apicais. Embora em todos os canais restasse *smear layer* as maiores concentrações se deram nos 3 mm apicais. Já em comparação com 9 mm não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Conclui-se dessa forma que os grupos onde foram ativados ultrasonicamente não reduziram a camada residual de *smear layer*.

Investigações demonstram que existem limitações da instrumentação manual e automatizada quanto a qualidade global do preparo químico-cirúrgico (WEINE; KELLY; BRAY, 1976; LEHMAN; GERSTEIN 1982; TUREK; LANGELAND, 1982; BOLANOS et al.,1988; HUSLSMANN; STRYGA 1993; HUSLSMANN; RUMMELIN; SCHAFERS, 1997, BERTRAND et al., 1999).

O ultra-som foi introduzido na Endodontia por Richman (1957) e dispositivos para irrigação tem sido desenvolvido a partir daí.

Embora se tenha um fluxo contínuo ainda não se sabe se o ultra-som é mais eficiente que a irrigação convencional com seringa. A utilização de seringa permite controlar o processo de irrigação, a profundidade da agulha e o volume do irrigante empregado, Enquanto que em fluxo contínuo o volume não é controlado, pois não é medido ou padronizado. (VAN DER SLUIS et al., 2006).

Van der Sluis et al. (2006) observaram a capacidade de limpeza com ultra-som comparando água e NaOCl 2% e observaram que água não é tão eficaz quanto o NaOCl 2% confirmando os resultados de outros autores (CAMERON 1987; CHEUNG; STOCK 1983; GUERISOLI et al., 2002). Os resultados podem ser explicados pois o NaOCl tem sua capacidade de dissolver matéria orgânica quando agitado por cavitação (MOORER ; WESSIELINK, 1982) e quando a temperatura sobe, no caso, devido a energia de cavitação (CUNNINGHAM; BALEKJIAN, 1980; AHMAD, 1990).

A eficácia do regime de irrigação depende de sua capacidade para entrar em contato com todo sistema de canais radiculares (CIUCCHI; KHETTAB; HOLZ, 1989). Embora o irrigante deva estar em contato com todas as superfícies internas para uma ação eficaz, isso é muito difícil principalmente na porção apical do canal (GUERISOLI et al., 2002)

Alguns estudos sugerem que a agulha de irrigação deva ser colocada o mais próximo possível da porção final apical para uma limpeza eficaz de todo comprimento do canal (GOLDMAN et al., 1976; ABOU-RASS; PICCININO, 1982; SEDGLEY ; LENNAN; APPELBE, 2005). Entretanto a agulha fica confinada próximo

ao forame e as chances de extrusão da solução aumentam (DRUTTMAN; STOCK, 1989).

Fukumoto et al. (2006) sugeriram uma nova técnica de irrigação-aspiração onde se usa uma agulha de aspiração e outra de irrigação na tentativa de minimizar a extrusão do material do irrigante através do forame. Eles utilizaram uma agulha para irrigação a 12 mm aquém do ápice e outra para aspiração a 2 e 3 mm aquém do ápice a qual estava ligada a ao Root ZX™ localizador apical. Concluíram que esse mecanismo de irrigação-aspiração é mais eficaz que o convencional limitando a extrusão do irrigante além forame.

2.3 Instrumentos Rotatórios

Nas últimas décadas a Endodontia vem observando grandes avanços tecnológicos diante do surgimento de diversos equipamentos periféricos que visam, por um lado, facilitar o desenvolvimento técnico dos tratamentos e por outro, diminuir o tempo operatório e a fadiga do paciente e do próprio operador. De fato, a mecanização da etapa do preparo do canal radicular quer nos parecer um processo irreversível em função dos benefícios que incorporou à moderna Endodontia. A cada dia novos equipamentos, motores e instrumentos são introduzidos no mercado e com maior freqüência os profissionais a eles recorrem.

Assim sendo, variados recursos já foram propostos por diversos autores, com a finalidade de lograr uma instrumentação mais segura e eficiente. Passamos por fase em que se recomendava o uso de equipamentos vibratórios sônicos ou

ultra-sônicos e, atualmente, estamos vivendo a fase dos rotatórios acoplados a limas confeccionadas a partir de ligas de NiTi.

Esse contexto caracterizou, em todas as ocasiões, mister mais mecânico do que biológico, tentando alcançar a cada momento meio capaz de tornar, a indispensável fase mecânica do tratamento endodôntico, algo de alcance mais fácil para qualquer cirurgião-dentista. Absolutamente válidas essas tendências, entretanto, sucessivamente, enfraquece-se por falha comum, tais como, a falta de preocupação com substâncias químicas específicas para a nova forma de instrumentação e pouca avaliação dos resultados biológicos derivados do uso dessa nova condição de preparo dos canais.

Siqueira Jr et al.(1999) avaliaram a capacidade de redução microbiana pela ação da instrumentação mecanizada. Dentes extraídos foram infectados com *E. faecalis* e posteriormente instrumentados. Observou-se redução de 90% das células bacterianas do interior do canal radicular.

A capacidade de limpeza manual e instrumentação por técnicas rotatórias em raízes achatadas méso-distalmente foi estudada pela análise morfométrica por Barbizam et al. (2002) A. Vinte incisivos mandibulares humanos foram divididos em dois grupos de 10 dentes cada: Grupo 1 - instrumentação usando ProFile .04; grupo 2 - técnica manual de instrumentação utilizando limas do tipo K. Os dentes foram avaliados em um microscópio óptico, que foi acoplado a um computador para determinar a percentagem de detritos remanescentes nos canais. A técnica manual foi mais eficiente na limpeza dos canais radiculares de raízes achatadas canais radiculares do que a técnica rotatória, embora nenhuma e nem outra das técnicas tenha propiciado limpeza total..

Marchesan (2002) confirma a necessidade de utilização de uma solução irrigante efetiva com propriedades químicas específicas, entre elas a capacidade de solvência de tecidos orgânicos, ou a associação entre técnicas de instrumentação para preencher esta lacuna deixada pela instrumentação rotatória nos grupos específicos de raízes que apresentam achatamento méso-distal.

Siqueira Jr et al. (2002) compararam *in vitro* a redução bacteriana intracanal utilizando duas técnicas de instrumentação e diferentes regimes de irrigação. Os canais foram divididos em quatro grupos experimentais nos quais de 1 a 3 utilizaram a técnica ARM (Alternated Rotatory Motions Technique) e as substâncias foram: NaOCl a 2,5%; NaOCl a 2,5% alternado com ácido cítrico a 10% e NaOCl a 2,5% alternado com gluconato de clorexidina a 2%, nessa ordem; e, um quarto grupo usando técnica manual e NaOCl a 2,5%. O grupo controle foi instrumentado com o sistema GT (Greater Taper) Rotatory Files manualmente utilizando solução salina a 0,85%. Na comparação dos quatro grupos foi demonstrado que todas as técnicas e regimes de irrigação reduziram significativamente o número de microrganismos no canal em relação ao grupo controle.

Pataky et al. (2002) compararam a eficácia antibacteriana de três técnicas de instrumentação (grupos 1 e 2, escalonada; 3, estandardizada; 4, só irrigação com soro fisiológico e 5, sem nenhum tratamento). No grupo que não sofreu tratamento evidentemente não houve nenhuma redução bacteriana; o grupo que só sofreu irrigação houve uma pequena diminuição em relação ao grupo que não recebeu tratamento. Em todos os grupos que foram instrumentados houve redução bacteriana maior, porém com nenhuma diferença significativa entre eles.

Schäfer e Schlingemann (2003) buscaram determinar a eficácia e a capacidade de limpeza propiciada pelos instrumentos rotatórios K3 e de aço

inoxidável do tipo K – Flexofile, durante a preparação dos canais radiculares curvos em dentes humanos extraídos. Baseado em radiografias tomadas antes da instrumentação com o instrumento inicial inserido no canal, os grupos foram equilibrados com relação ao ângulo e do raio de curvatura canais. Canais foram preparados por K3 usando técnica crown-down e por limas do tipo K - Flexofiles usando técnica convencional até tamanho 35. Depois de cada instrumento, os canais radiculares foram irrigados com 5 mL de solução de NaOCl2,5% e no final da instrumentação com 5 mL de solução salina. Usando radiografias, pré e pós - instrumentação, a retificação das curvaturas foi determinada por um programa de análise computadorizado. Limpeza foi avaliada por MEV. Nenhum dos instrumentos limpou completamente os canais. Para remoção de detritos as limas K-Flexofile atingiram significativamente os melhores resultados ($p < 0,001$) do que instrumentos K3 .Os resultados para o restante dos grupos foram semelhantes ($p > 0,05$). Instrumentos K3 mantiveram a curvatura original melhor ($p < 0,0001$) do que K-Flexofile. Não foram detectadas diferenças significativas entre os instrumentos ($p > 0,05$) para o tempo necessário para preparar os canais. Nas condições deste estudo, K - Flexofile permitiu melhor remoção de detritos que instrumentos K3.

A redução, *in vitro*, da população bacteriana em canais usando três técnicas de instrumentação foi avaliada por Colak et al. (2005.) Canais radiculares foram inoculados com uma suspensão de *Enterococcus faecalis* e foram instrumentados utilizando limas Hedstroen manualmente e os instrumentos rotatórios Giromatic e Hero 642. A Irrigação foi realizada utilizando solução salina estéril. Amostras dos canais radiculares foram coletadas antes e após a instrumentação. Após uma série diluições, as amostras foram plaquaedas em agar Mitis - Salivarius e as unidades formadoras de colônias que cresceram foram contadas. Todos os instrumentos

testados foram capazes de reduzir significativamente o número de células bacterianas nos canais, no entanto, os resultados indicaram que limas Hedstroen, Giromatic, e Hero não foram significativamente diferentes em sua capacidade de reduzir microorganismos nos canais radiculares.

Chuste-Guillot et al. (2006) também compararam a redução de microorganismos, *in vitro*, em canais radiculares infectados após instrumentação por 3 diferentes sistemas rotatórios com instrumentos de níquel - titânio (NiTi) com diferentes conicidades e diâmetro versus instrumentos manuais de aço inoxidável. 64 raízes de dentes humanos foram infectadas com uma suspensão de *Streptococcus sanguis* medida pela densidade óptica. Os dentes foram divididos aleatoriamente em 4 grupos de 16 e preparados com limas K-Flexofile, sistema rotatório GT, HERO 642, e ProFile. Coletas bacterianas foram realizadas antes (S1), durante (S2 - S3), e depois (S4) da instrumentação. Os resultados mostraram que todas as técnicas reduziram significativamente o número de células bacterianas nos canais radiculares ($p < .05$). Não houve diferença significativa entre NiTi e instrumentação manual em S2, S3, ou S4. No que diz respeito à redução bacteriana, os resultados sugerem que a instrumentação manual com limas de aço inoxidável é tão eficiente quanto a instrumentação rotatória usando instrumentos de NiTi. Independentemente da técnica de preparação, da sua conicidade, e do diâmetro, a dentina radicular permaneceu infectada e não houve raiz totalmente livre de bactérias ao final do experimento.

Aydin et al. (2007) tiveram como objetivo testar a hipótese de que por meio de uma instrumentação cônica reduziria mais eficazmente o número de microorganismos intracanal do que uma instrumentação mais conservadora. Foram utilizados vinte pré-molares inferiores humanos extraídos que após serem autoclavados foram inoculados com *Enterococcus faecalis* e incubados durante 7

dias para permitir a infecção dos túbulos dentinários. Os dentes foram divididos em 2 grupos experimentais, cada um com 10 dentes. Foram então instrumentados com ProTaper ou com Hero utilizando técnicas rotatórias. Foi imaginado, por meio de cálculos, que o sistema ProTaper, teoricamente, teria o potencial de eliminar, pelo menos, o dobro do volume de dentina em comparação ao sistema Hero .A preparação apical foi padronizada para tamanho 30. Solução salina foi usada para irrigação. Amostras bacteriológicas foram tomadas antes e depois da instrumentação e semeadas em TSA a redução do número de microorganismos foi calculada. Os resultados demonstraram que as duas técnicas reduziram significativamente o número de microorganismos nos canais ($p < 0,05$). A redução bacteriana em números absolutos foi de até 98%. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as duas técnicas.

A breve revisão da literatura apresentada deixa transparecer com clareza o somatório de preocupações que existem em torno da fase de preparo dos canais radiculares e suas relações com o alcance da desinfecção.

A desinfecção absoluta do sistema de canais radiculares ainda constitui condição não alcançada, mesmo diante de todo progresso das técnicas endodônticas desenvolvidas e propostas nos últimos lustros.

Com o advento de periféricos facilitadores da fase de preparo químico-cirúrgico (sônicos, ultra-sônicos e os mais recentes de caráter rotatório) essa fase sofreu mudanças que mesclam o menor tempo de preparo à diversidade de conformação final do preparo, permanecendo em aberto a questão do quanto tais equipamentos são também capazes de favorecer a desinfecção.

Diante do exposto foi objetivo desse estudo avaliar se existe necessidade ou não de promover tratamento químico da dentina após preparo químico-cirúrgico de canais radiculares quando do emprego de instrumentação rotatória.

3 PROPOSIÇÃO

Diante do exposto, foi objetivo desta pesquisa avaliar comparativamente o grau de desinfecção de canais radiculares previamente contaminados por *Enterococcus faecalis* diante do preparo químico-cirúrgico desenvolvido por meio da aplicação do sistema rotatório K3, empregando como substância química auxiliar o Endo PTC sob a forma leve, seguindo-se ou não tratamento químico complementar da dentina radicular.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 16 caninos inferiores unirradiculados, fornecidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, obedecendo-se como critérios de inclusão: caninos unirradiculares portadores de canal único com raiz achatada no sentido méso-distal, ausência de qualquer tipo de intervenção endodôntica prévia e ausência de fraturas.

4.1 Preparo dos Espécimes

As coroas dos dentes foram cortadas com discos de carboril em baixa rotação e o tamanho das raízes padronizado em 15 mm. Todas as raízes foram radiografadas no sentido mesio-distal a fim de confirmar a presença de um único canal.

Os canais foram esvaziados com auxílio de limas tipo K de números 10 ou 15 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) conforme o diâmetro do orifício de entrada do canal, valendo-se de solução de hipoclorito de sódio a 1% (Fórmula & Ação Ltda.).

Após as manobras de esvaziamento foi aplicada uma solução de tiosulfato de sódio a 5% (Fórmula & Ação Ltda.) visando neutralizar a ação da solução de hipoclorito de sódio, seguindo-se abundante irrigação com soro fisiológico a fim de remover os resíduos dos produtos utilizados anteriormente.

Empregando-se limas endodônticas manuais tipo K de números 10 ou 15 procedeu-se à odontometria empregando técnica visual, ou seja, as limas foram

introduzidas no canal radicular até que se pudesse visualizar a ponta das mesmas nas imediações do forame apical, manobras essas auxiliadas por uma lupa de 4 aumentos. Da medida assim obtida e demarcada por um limitador de silicone, reduziu-se 1 mm, considerando-se então essa, a extensão correspondente ao comprimento real de trabalho.

Após o esvaziamento, os dentes foram impermeabilizados externamente com duas camadas com cianoacrilato de etila (Super Bonder) deixando-se secar em temperatura ambiente por 24 h. Após a secagem foram montados em tubos do tipo Eppendorf de 1,5 mL e envolvidos por massa adesiva (Durepox – composto a base de resina epóxica, associada a cargas minerais e poliamida) tendo em vista a fixação dos dentes nos tubos tipo Eppendorf. Após 24 horas, tempo conveniente à cura final da massa adesiva os conjuntos raízes + tubos do tipo Eppendorf foram conduzidos à esterilização em autoclave, considerados 20 min e 134 °C.

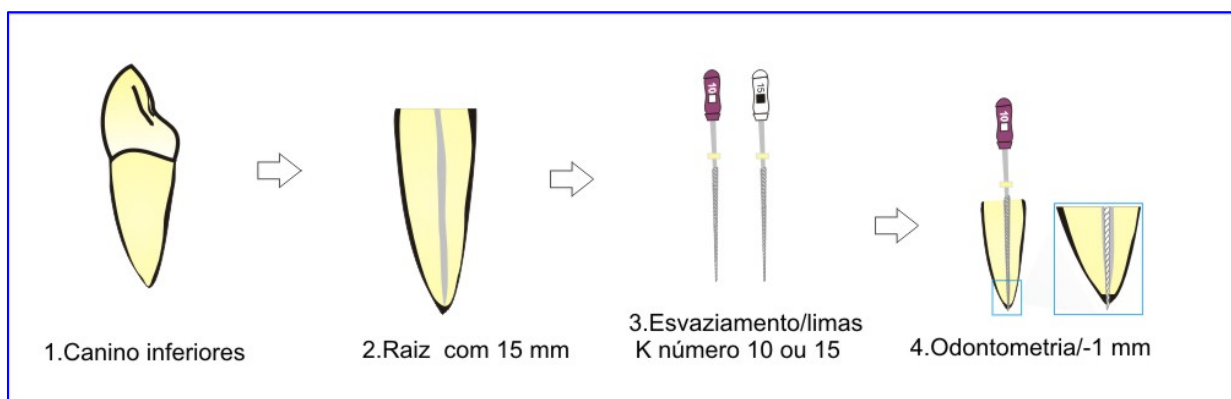


Figura 4.1 - Preparo dos espécimes



Figura 4.2 - Canino inferior



Figura 4.3 - Raiz cortada e impermeabilizada com Super Bonder



Figura 4.4 - Raiz envolta em Duronox



Fig.4 5 - Raiz instalada no tubo tipo Eppendorf

4.2 Preparo do inóculo

Para o preparo do inóculo foram utilizados isolados de colônias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Após crescimento em meio sólido, colônias isoladas desses microrganismos foram suspensas em tubos contendo 5 mL de meio de cultura TSB (Tryptic Soy Broth) e ajustada em espectrofotômetro a 0,5 de turbidez com absorvância de A 600 nm. Essa suspensão foi estocada a 37 °C durante 18h e após esse período nova suspensão foi obtida.

100 µl da suspensão anterior foi adicionada a 5 mL de meio TSB até chegar a turbidez 0,1 a uma densidade óptica de A 600 nm que correspondente à concentração bacteriana 0,5 da escala de Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC).

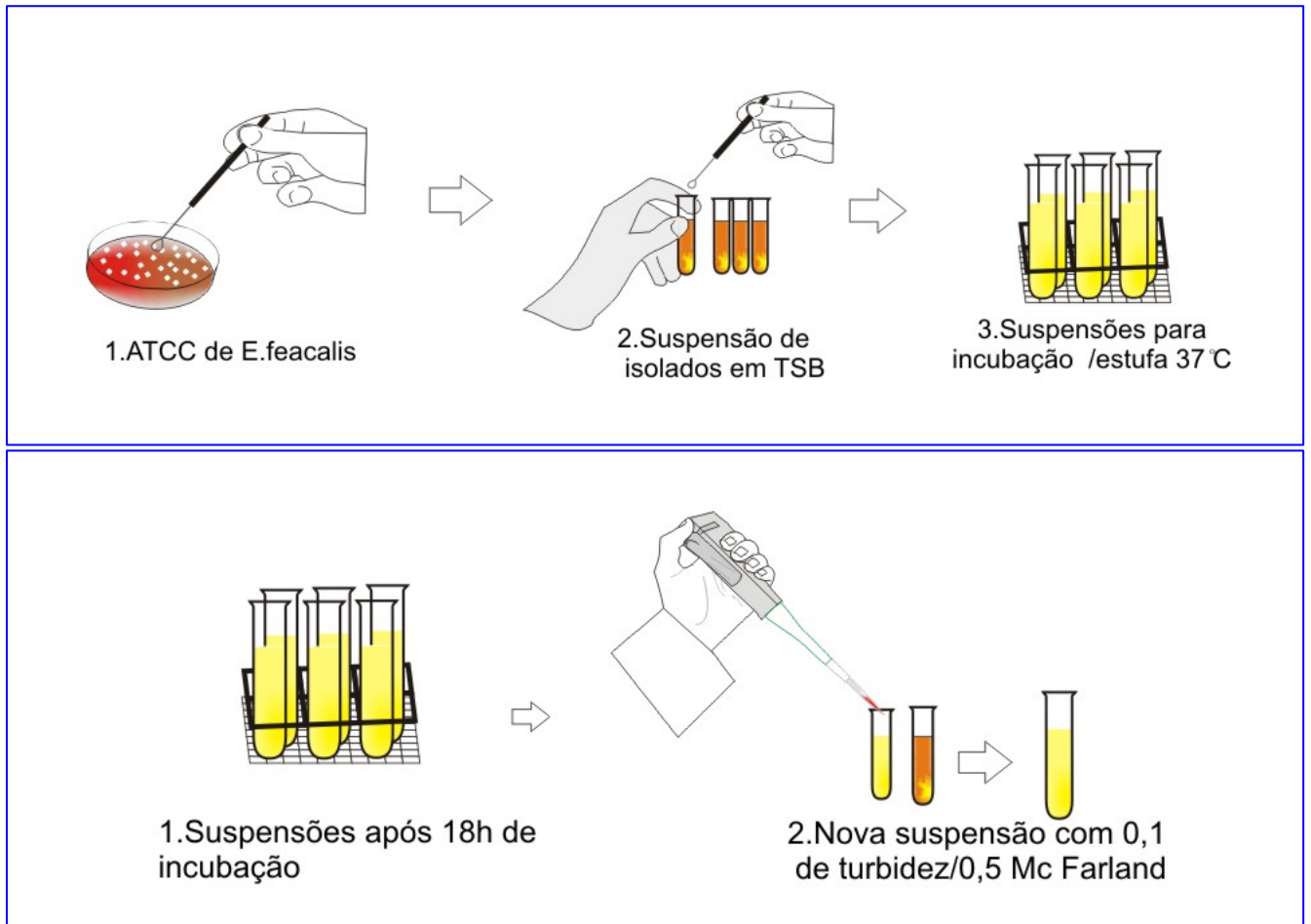


Figura 4.6 - Preparo do inóculo

4.3 Inoculação dos Espécimes

Os espécimes foram inoculados com auxílio de seringas e agulhas utilizadas para aplicação de insulina até o completo preenchimento dos canais radiculares, seguindo-se incubação por 7 dias em estufa a 37 °C acrescentando-se nova porção de meio de cultura a cada 24 horas.



Figura 4.7 - Inoculação dos espécimes

Microbiológico realizada nos dentes deu-se imediatamente após o tempo de incubação objetivando-se avaliar a quantidade de unidades formadoras de colônias haviam sido inoculadas em cada raiz dentária e até mesmo para verificar algum agente contaminante indesejável havia sobrevivido à esterilização.

Cones de papel absorvente esterilizados de número 15 foram inseridos nos canais radiculares e aí mantidos por 30 segundos cada um, empregando-se o mínimo de 3 cones, até que não mais se observasse visualmente a aparência de umidade nos cones. Esses foram então transferidos para tubos tipo Eppendorf contendo 1 mL de água peptonada.

Isso feito seguiu-se o preparo químico-cirúrgico dos dentes. Foram realizados dois ensaios em dias diferentes. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em dois grupos assim distribuídos:

Grupo I – 08 dentes preparados pelo sistema rotatório K3

Grupo II – 08 dentes preparados pelo sistema rotatório K3 com tratamento químico complementar da dentina radicular

4.4 Preparo químico cirúrgico do Grupo I

O preparo químico-cirúrgico dos canais radiculares foi realizado apenas com instrumentos rotatórios. Foram usadas limas, seguindo-se a proposta de instrumentação preconizada pelo sistema K3 (Sybron-Endo, Orange, CA, EUA)

obedecendo-se a seqüência de instrumentos recomendada para caninos inferiores (25.08; 25.06; 25.04; 30.02; 35.05) com auxílio de um motor elétrico para preparo endodôntico (Endo Plus VK Driller) e na presença de Endo PTC sob a forma leve (Fórmula & Ação), reagindo com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% - pH 9,0 (Fórmula & Ação), com substituição das substâncias químicas auxiliares a cada troca de instrumento. A irrigação final foi efetuada com 20 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,5% seguidas de 20 mL de solução de EDTA - T a 17% - pH 7,0 (Fórmula & Ação) e mais 15 mL de solução fisiológica que ao final permaneceu no interior dos canais radiculares por 2 minutos a fim de remover resíduos de substâncias auxiliares. Os canais foram então preenchidos com solução fisiológica e assim mantidos durante 2 minutos até que nova coleta fosse realizada. Cones de papel absorventes esterilizados (número 30) foram inseridos no canal radicular e mantidos por 30 segundos para cada um (mínimo de 3 cones) até que não mais exibissem sinais de umidade. Esses cones foram então transferidos para tubos tipo Eppendorf com 1mL de água peptonada.

4.5 Preparo químico cirúrgico para Grupo II

Os dentes do Grupo II também tiveram os canais radiculares preparados com sistema rotatório K3 até a fase de irrigação-aspiração final com hipoclorito a 0,5% e EDTA-T a 17%. Após a essa etapa foi realizado o tratamento químico da dentina.

Esse tratamento correspondeu à inserção de solução de hipoclorito de sódio a 1% no interior da cavidade pulpar inundando-a por completo. Com uma lima tipo K

de número 25 a solução de hipoclorito de sódio foi agitada durante um minuto. Esse procedimento foi repetido 5 vezes irrigando-se e aspirando-se o canal radicular com 2 mL da solução de hipoclorito de sódio no intervalo de cada vez durante 2 minutos, num total de 10 mL dessa substância e somando um tempo de 10 minutos. A irrigação final foi efetuada com 10 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,5% seguidas de 20 mL de solução de EDTA - T a 17% (pH 7,0).

Culminando esse tempo operatório os canais foram irrigados com 15 mL de soro fisiológico durante 2 minutos e nova coleta para exame microbiológico foi realizada como descrito para o grupo I.

Toda manipulação, preparo químico-cirúrgico, inoculação, coleta semeadura foram realizadas em câmara de fluxo laminar.

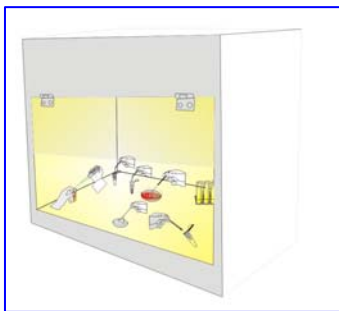


Figura 4.8 - Fluxo laminar/todos os procedimentos



Figura 4.9 - Endo Plus VK Driller



Figura 4.10 - Endo Plus VK Driller/fluxo laminar

4.6 Semeadura e contagem

Essas suspensões sofreram diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-7} em água peptonada antes do preparo químico-cirúrgico e de 10^{-1} a 10^{-5} após o preparo químico-cirúrgico. Após as diluições foram realizadas sementeira em triplicata em placas contendo TSA (Tryptic Soy Agar).

Após agitação vigorosa das amostras em agitador mecânico (Fisher Vortex Genie - Fisher Cientific) durante 30 segundos, a cada placa foram adicionadas alíquotas de 100 μ l da amostra e inoculadas na superfície de placas do tipo Petri com auxílio de alça de Drigalski. Após o período de 24 h de incubação a 37 °C, as placas que apresentaram crescimento bacteriano tiveram a estimativa de número de unidades formadoras de colônias (UFCs) analisadas. Os resultados foram anotados e posteriormente tratados estatisticamente.

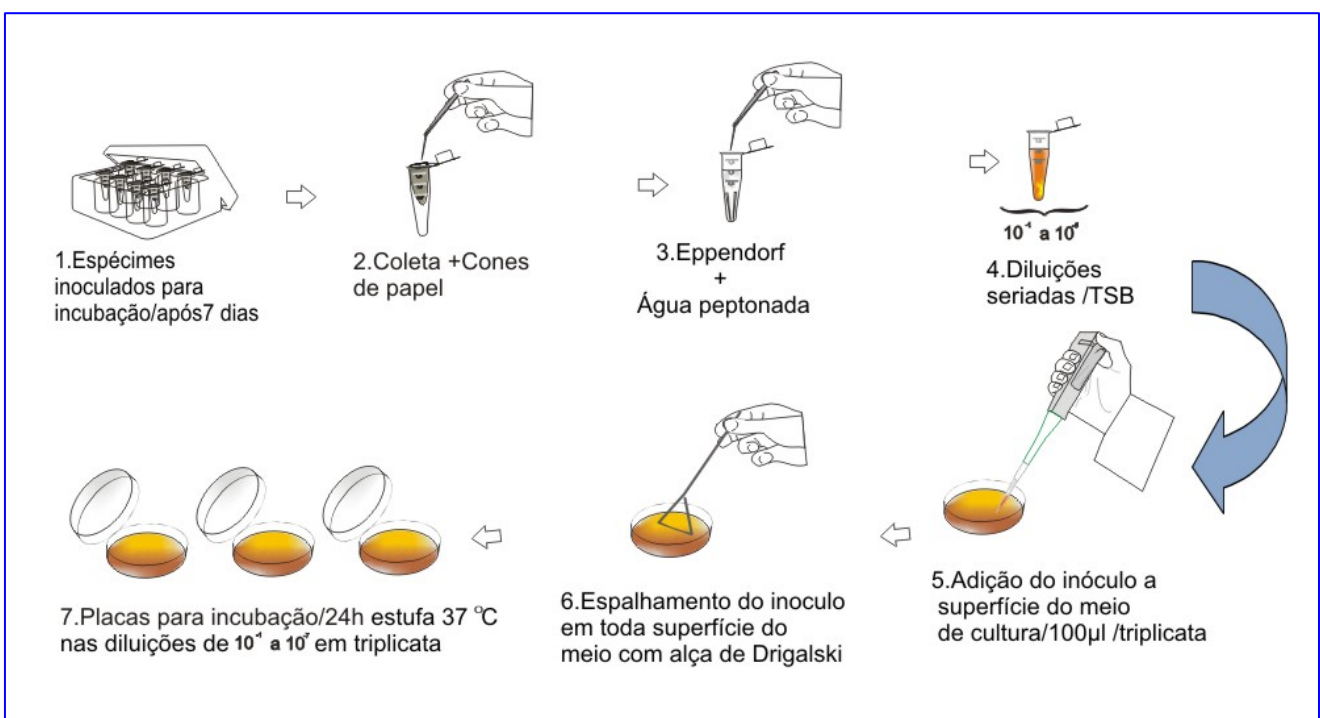


Figura 4.11 - Coletas e sementeira



Figura 4.12 - Contador de colônias/placa no contador

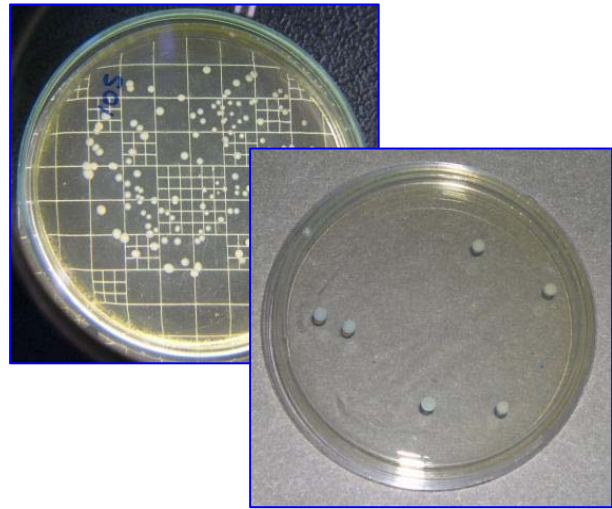


Figura. 4 13 - Colônias de *E. faecalis*

Após análise exploratória dos dados, observou-se que os mesmos não atendem as pressuposições de uma análise paramétrica, assim, a avaliação dos dados foi feita pelos testes não paramétricos de Wilcoxon para verificar o efeito de tempo (antes e depois) e Mann Whitney para verificar-se o efeito do tratamento. Os cálculos estatísticos foram realizados pelo pacote Bioestat 4.0* e o nível de significância adotado foi de 5%.

* Bioestat 4.0 statistical program (Mamirauá Maintainable Development Institute, Belém, Pará, Brazil, 2005).

5 RESULTADOS

A Tabela 5.1 apresenta a média e o desvio padrão das contagens de unidades formadoras de colônias nos grupos de estudo, em função dos tempos (antes e depois).

Tabela 5.1 – Unidades formadoras de colônias em função do tratamento e do tempo (antes e depois)

Tempo	Grupos de estudo	
	1	2
Antes	$6,65 \times 10^8 \pm 10,00 \times 10^8$	$1,41 \times 10^9 \pm 2,33 \times 10^9$
Depois	$6,45 \times 10^6 \pm 5,37 \times 10^6$	$1,14 \times 10^7 \pm 1,36 \times 10^7$

Diante da análise dos dados não foi verificada diferença estatística entre os grupos de estudo ($p > 0,05$) em relação ao tipo de tratamento (grupo I - PQC só com instrumentação rotatória e o grupo II - PQC com instrumentação rotatória seguido de tratamento químico da dentina).

	pré – operatório média UFCs	pós –operatório média UFCs	% de redução
GRUPO I	$6,65 \times 10^8 \pm 10,00 \times 10^8$	$6,45 \times 10^6 \pm 5,37 \times 10^6$	99,0%
GRUPO II	$1,41 \times 10^9 \pm 2,33 \times 10^9$	$1,14 \times 10^7 \pm 1,36 \times 10^7$	99,2%

Quadro 5.1 Redução percentual pré –operatório e pós -operatório

Houve redução da população bacteriana em ambos os grupos no que se refere ao pré e pós operatório. No grupo 1 o *depois* (após preparo químico-cirúrgico só com instrumentação rotatória) apresentou menor quantidade de unidades formadoras de colônia (diminuição de $6,58 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia, ou seja diminuição de 99,0% do inicial). No grupo 2 (preparo químico-cirúrgico com instrumentação rotatória seguido de tratamento químico da dentina) a diminuição foi de $1,40 \times 10^9$, ou seja, 99,2% em relação ao inicial.

6 DISCUSSÃO

A desinfecção do sistema de canais radiculares é alcançada durante a fase de preparo do canal, por meio da ação da instrumentação mecânica em estreita associação às substâncias químicas auxiliares. Enquanto a etapa mecânica visa o preparo e a obtenção da forma do canal radicular, a química auxilia na desinfecção e limpeza do sistema de canais radiculares. (PAIVA; ANTONIAZZI, 1991).

Grandes avanços tecnológicos têm sido observados nas últimas décadas na Endodontia. O surgimento de diversos equipamentos periféricos que visam facilitar o desenvolvimento técnico dos tratamentos, diminuir o tempo operatório, a fadiga do paciente e do próprio operador, têm sido uma constante.

Variados recursos foram propostos por diversos autores com a finalidade de se obter um preparo químico-cirúrgico mais seguro e eficiente. Equipamentos vibratórios sônicos ou ultra-sônicos (RICHMAN, 1957) já foram recomendados e, mais recentemente ganharam espaço os sistemas rotatórios que empregam limas confeccionadas a partir de ligas de NiTi.

Assim, com a introdução dos sistemas rotatórios de preparo do canal houve intensa preocupação com as propriedades físicas, formas de utilização e desenho dos instrumentos, deixando à parte o desenvolvimento de substâncias químicas auxiliares compatíveis com a nova forma em se desenvolver o preparo químico-cirúrgico, que em função da mecanização, pode atualmente, ser desenvolvido em período de tempo substancialmente menor.

Dessa forma, o tempo de contato entre as substâncias químicas auxiliares e o contexto endodôntico fica diminuído quando da aplicação da instrumentação

rotatória, criando dúvidas sobre a efetiva desinfecção propiciada por esse tempo operatório nessa condição.

Diante do exposto, foi objetivo desta pesquisa avaliar comparativamente o grau de desinfecção de canais radiculares previamente contaminados por *Enterococcus faecalis* diante do preparo químico-cirúrgico desenvolvido por meio do sistema rotatório K3 e seguindo-se ou não tratamento químico complementar da dentina radicular.

Para comparar a redução de microrganismos foi empregado o método de contagem de placas por meio de diluição seriada que consiste em utilizar uma dada amostra e a partir dessa realizarem-se diluições seqüenciais de 1 para 10 procedendo-se em seguida a semeadura de uma alíquota em meio sólido e incubação. As células ou agrupamentos de células que crescerem isoladamente darão origem a colônias (UFCs) e assim poderão ser contadas (BARBIZAM et al., 2002; PATAKY et al., 2002; COLAK et al., 2005; CHUSTE-GUILLOT et al., 2006).

Durante o PQC a anatomia é um componente crítico na terapia endodôntica. A diversidade da anatomia interna dos dentes influi de forma significativa na promoção da limpeza (RAM, 1977). Quanto maior a variação anatômica mais difícil torna-se o contato do instrumento com as paredes dentinárias, diminuindo a ação dos instrumentos favorecendo a permanência de dentina excisada, remanescentes de tecido pulpar e microrganismos nas fissuras, reentrâncias, istmos ou outras ramificações do canal radicular (SIQUEIRA Jr et al., 1999; BARBIZAM et al., 2002).

Optou-se neste estudo por caninos inferiores que são dentes que apresentam achatamento méso-distal de suas raízes e, desse modo, o canal é mais largo no sentido vestibulo-lingual do que no sentido méso-distal. Sua morfologia interna pode apresentar-se com uma raiz e um canal; uma raiz com dois canais, que podem

terminar em um único forame ou em dois forames independentes ou com duas raízes e dois canais, que podem estar bifurcados na região média ou na região apical ou, ainda, fusionados. Sendo um dente de variações anatômicas tão complexas, mesmo quando portador de canal único, torna-se difícil que todas as superfícies dentinárias que se deseja limpar sejam alcançadas pelos instrumentos durante o PQC, o que tornaria recomendável algum tipo de tratamento adicional para promover melhor limpeza e conseqüente desinfecção.

Os microrganismos presentes no canal radicular incluem um restrito grupo de espécies comparado com o todo da cavidade oral. Os microrganismos mais comumente isolados dos canais radiculares são os facultativos *Streptococcus* e as espécies relacionadas tais como *Enterococcus* e *Gemella* (MORSE 1987; SUNDQVIST, 1994). A utilização de *E. faecalis* neste estudo justifica-se devido ser a espécie de enterococos mais prevalente nos canais radiculares (MOLANDER et al., 1998; SUNDQVIST et al., 1998), à sua resistência aos procedimentos de PQC e medicação intracanal e o seu envolvimento em fracassos endodônticos (LOVE 2001; GOMES, 2002; RADCLIFFE et al., 2004; FERRARI; BOMBANA;CAI, 2005; STUART et al., 2006; ZOLETTI ; SIQUEIRA JR; SANTOS,2006), além de ser relativamente fácil de manipular e cultivar.

Soluções de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações são as substâncias químicas mais empregadas mundialmente durante o tratamento endodôntico. Tendo em vista ampliar seus efeitos de limpeza e desinfecção existem indicações consagradas na literatura que recomendam o uso do NaOCl associado, ou alternado, e até complementado por outras soluções ou produtos.

O creme de Endo PTC empregado em reação com soluções de hipoclorito de sódio é uma das substâncias químicas auxiliares mais utilizadas nas faculdades

brasileiras (ALBERGARIA, 1989). Complementando o uso do Endo PTC reagindo com hipoclorito de sódio, soluções de EDTA são recomendadas para remoção de *smear layer* após o PQC. (SCELZA ; ANTONIAZZI; SCELZA; MENEZES; ZANET;VALERA, 2003; ZEHNDER et al., 2005; DOTTO et al., 2007).

O PQC neste estudo foi realizado na presença de Endo PTC sob a forma leve (veiculado em polietilenoglicol 400 - Fórmula & Ação) reagindo com hipoclorito de sódio a 0,5%. A irrigação final foi efetuada com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% seguido de solução de EDTA - T a 17% - pH 7,0 (Fórmula & Ação) e finalmente soro fisiológico.

Neste estudo o preparo químico-cirúrgico dos canais radiculares foi realizado com instrumentos rotatórios seguidos ou não de tratamento químico da dentina. Foram usadas limas para instrumentação rotatória do sistema rotatório K3 (Sybron-Endo, Orange, CA, EUA) com auxílio de um motor elétrico para preparo endodônticos (Endo Plus VK Driller). A escolha para este estudo do sistema rotatório K3 justifica-se por clinicamente ter se revelado seguro, eficiente, com baixíssimo índice de fratura (SCHÄFER; SCHLINGEMANN, 2003) quando comparado com os demais sistemas, permitem um maior número de uso e apresentam a melhor relação custo-benefício.

Foi verificada uma redução bacteriana de 99,0% do pré-operatório para o pós-operatório no grupo I, ou seja, na coleta inicial, antes do PQC havia uma média de $6,65 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias e passando posteriormente ao tratamento para $6,45 \times 10^6$. Esses resultados estão concordes com outros estudos que demonstraram uma efetiva diminuição bacteriana após o PQC usando sistemas rotatórios (PATAKY et al.,2002; COLAK et al.,2005; CHUSTE-GUILLOT et al., 2006; AYDIN et al., 2007). Não obstante alguns autores tenham encontrado resultados

diferentes em relação a efetividade da instrumentação rotatória, demonstrando que a técnica manual revelou-se mais eficiente em termos de desinfecção (SIQUEIRA Jr et al., 1999; BARBIZAM et al., 2002), nenhum deles mostrou completa eliminação dos microrganismos do sistema de canais radiculares.

No grupo II foi verificada também uma redução bacteriana. Essa se revelou muito semelhante à do grupo I propiciando uma redução da ordem de 99,2% na comparação entre o pré-operatório e o pós-operatório, ou seja, na coleta inicial, antes do PQC havia uma média de $1,41 \times 10^9$ unidades formadoras de colônias e após o tratamento a média baixou para $1,14 \times 10^7$ a despeito da aplicação do tratamento químico complementar sobre o complexo dentinário.

A hipótese de que seria necessário após o preparo dos canais radiculares com instrumentação rotatória tratar quimicamente a dentina visando compensar o menor tempo de contato das substâncias químicas auxiliares com o sistema endodôntico, ao menos, do ponto de vista microbiológico não se revelou essencial, de vez que ficou demonstrada a não existência de diferenças estatísticas significantes na comparação entre os Grupos I e II.

Um das razões para isso pode estar relacionada ao padrão de infecção bacteriana em nível dos túbulos dentinários. Este modelo pode influenciar os resultados dos estudos in vitro em dentes infectados. Estudos artificialmente infectando túbulos dentinários, em geral, empregam relativamente curta duração durante o período de incubação de 1 dia a 1 semana. Neste caso, é possível que as bactérias penetrem através dos túbulos dentinários podendo ser recuperadas mesmo depois de completa instrumentação (AYDIN et al., 2007). Ainda por mais, agressiva que seja a instrumentação outra razão pode estar relacionada com a anatomia do canal radicular (MAYER et al., 2002; GUERISOLI et al., 2002).

Outro fator a ser relacionado são os efeitos da irrigação. Entre os procedimentos envolvidos no controle da infecção endodôntica, a irrigação pode desempenhar um papel importante na eliminação de microrganismos do canal radicular (PAIVA; ANTONIAZZI, 1991; HALAPASSO et al., 2005; BAUGH ; WALLACE, 2005). Irrigantes são utilizados durante o tratamento endodôntico para remover detritos, lubrificar as paredes dentinárias, dissolver matéria orgânica no canal; e, para ter ação antimicrobiana (PAIVA;ANTONIAZZI,1991). Efeitos mecânicos durante irrigação são geradas pelo fluxo e refluxo dos irrigantes (LOPES;SIQUEIRA JR., 2004), como também a despeito do tipo de irrigante utilizado, a população bacteriana no interior do canal radicular é significativamente reduzida pelos efeitos mecânicos de irrigação (SIQUEIRA JR et al., 1999).

O preparo químico cirúrgico é um processo relativamente breve. Isso pode ser especialmente crítico para as técnicas recentes de instrumentação rotatória que têm caracterizado redução no tempo de processamento, ação e contato, em nosso caso, especificamente em relação à reação do Endo PTC com o hipoclorito de sódio. Teoricamente, dado o menor tempo em que essa associação de substâncias químicas atuariam no interior do sistema de canais radiculares, menor seria sua eficácia antibacteriana. Para mais, em função do fato de que canais achatados não permitem grande alargamento sem o risco de criar uma perfuração lateral optamos pela hipótese de emprestar maior efetividade às manobras de irrigação e aspiração.

Assim, uma mudança na técnica de preparo de canais foi considerada nesta pesquisa, mas os dados obtidos não mostraram essa necessidade.

De outra parte, cabe considerar que inúmeros trabalhos mostram que imediatamente após a conclusão do preparo químico-cirúrgico, independentemente da técnica adotada, manual ou mecanizada, decorre a diminuição no nível de

contaminação inicial, mas nunca revela-se a completa eliminação dos microrganismos contaminantes. Esse aspecto valoriza em muito a necessidade do emprego de alguma forma de medicação intracanal com característica anti-séptica a fim de que atue como elemento de controle e de complemento da desinfecção inicialmente obtida.

Cumprindo ainda considerar outro aspecto relacionado a nossa proposta de estudo, ou seja, mesmo não tendo sido demonstrada a necessidade da aplicação do tratamento químico da dentina após a instrumentação rotatória, mal nenhum há de decorrer ao se adotar esse procedimento, que no mínimo irá atuar propiciando maior limpeza das paredes dentinárias e aumentando sua permeabilidade pelo maior esvaziamento da entrada de túbulos dentinários, propiciando assim melhor adaptação e quiçá até maior probabilidade de penetração do cimento obturador quando das manobras de término do tratamento.

Mesmo assim, é recomendável que novos estudos venham a ser desenvolvidos em relação ao tema no sentido de continuar a busca por substâncias químicas auxiliares ou associações dessas para aplicação em novas técnicas compatíveis com a forma mecanizada de proceder ao preparo químico-cirúrgico.

7 CONCLUSÕES

Com base no método nos resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que:

1. As duas técnicas utilizadas nos grupos de estudo foram eficientes em reduzir o número de células bacterianas nos canais.
2. Não foi verificada diferença estatística entre os grupos de estudo ($p > 0,05$) em relação ao tipo de tratamento.

REFERÊNCIAS ¹

- Abou-Rass M, Piccinino MV. The effectiveness of four clinical irrigation methods on the removal of root canal debris. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1982 ;54(3):323-8.
- Ahmad M. Measurements of temperature generated by ultrasonic file in vitro. *Endod Dent Traumatol.* 1990;6(5):230-1.
- Albergaria S. Substâncias químicas auxiliares da instrumentação dos canais radiculares utilizadas nas universidades brasileiras. *Rev Fac Odontol Univ. Fed. Bahia* 1989;(8-9):1-13.
- Ando N, Hoshino E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentine. *Int Endod J* 1990;23(1):20-7.
- Aun CE. Possíveis variações do efeito antimicrobiano de uma solução de hipoclorito de sódio em função da concentração, tempo de contato e da experimentação com e sem uso de instrumentos endodônticos (contribuição ao estudo [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP;1979.
- Aydin C, Tunca YM, Senses Z, Baysallar M, Kayaoglu G, Ørstavik D. Bacterial reduction by extensive versus conservative root canal instrumentation in vitro. *Acta Odontol Scand* 2007;65(3):167-70.
- Baker NA, Eleazer PD, Averbach, RE, Seltzer S. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. *J Endod* 1975 ;1(4):127-35.
- Barbizam JV, Fariniuk LF, Marchesan MA, Pecora JD, Sousa-Neto MD. Effectiveness of manual and rotary instrumentation techniques for cleaning flattened root canals. *J Endod* 2002;28(5):365-6.

¹De acordo com Estilo Vancouver . Abreviaturas de periodicos segundo base de dados MEDLINE.

- Barnhart BD, Chuang A, Lucca JJ, Roberts S, Liewehr F, Joyce AP. An in vitro evaluation of the cytotoxicity of various endodontic irrigants on human gingival fibroblasts. *J Endod.* 2005;31(8):613-5.
- Baugh D, Wallace J. The role of apical instrumentation in root canal treatment: a review of the literature. *J Endod* 2005;31(5):333-40.
- Bergenholtz, G. Effects of bacterial products on inflammatory reactions in the dental pulp. *Scand. J. Dent. Res;*1977;85:122-129.
- Bertrand MF, Pizzardini P, Muller M, Médioni E, Rocca JP. The removal of the smear layer using the Quantec system. A study using the scanning electron microscope. *Int Endod J* 1999;32(3):217-24 .
- Bolanos OR, Sinai IH, Gonsky MR, Srinivasan R. A comparison of engine and air-driven instrumentation methods with hand instrumentation. *J Endod* 1988;14(8): 392-6.
- Bombana AC, Paiva JG, Antoniazzi J H, Álvares S. Reação inflamatória do olho de coelho que se segue à instalação de alguns fármacos de uso endodôntico. *Rev Assoc Paul Cirurg Dent* 1974;78(4): 216-23.
- Brown LR, Rudolph Jr CE. Isolation and identification of microorganisms from unexposed canals of pulp-involved teeth. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol;*1957;10(10):1094-99.
- Buckley JP. *Matéria Médica, farmacologia terapêutica, clínica dental*: Labor S.A. Barcelona;1926.
- Bystrom A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J* 1985;18(1):35-40.
- Callahan JR. Sulfuric acid for opening root-canals. *Dent Cosmos* 1984;36(12):957-9.
- Cameron JA. The synergistic relationship between ultrasound and sodium hypochlorite: a scanning electron microscope evaluation. *J Endod* 1987;13(11):541-5.
- Carvalho GL, Habitante SM, Lage-Marques JL. Análise da alteração da permeabilidade dentinária promovida pela substância endo ptc empregando diferentes veículos. *Cienc Odontol Bras* 2005;8(4):23-8.

Cheung GS, Stock CJ. In vitro cleaning ability of root canal irrigants with and without endosonics. *Int Endod J* 1993;26(6):334-43.

Chow TW. Mechanical effectiveness of root canal irrigation. 1983;9(11):475-9.

Chuste-Guillot MP, Badet C, Peli JF, Perez F. Effect of three nickel-titanium rotary file techniques on infected root dentin reduction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102(2):254-8.

Ciucchi B, Khettabi M, Holz, J. The effectiveness of different endodontic irrigation procedures on the removal of the smear-layer: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 1989;22(1):21-8.

Clarkson RM, Moule AJ, Podlich H, Kellaway R, Macfarlane R, Lewis D, et al. Dissolution of porcine incisor pulps in sodium hypochlorite solutions of varying compositions and concentrations. *Aust Dent J* 2006 ;51(3):245-51.

Colak M, Evcil S, Bayindir YZ, Yigit N. The effectiveness of three instrumentation techniques on the elimination of *Enterococcus faecalis* from a root canal: an in vitro study. *J Contemp Dent Pract* 2005;15;6(1):94-106.

Cunningham WT, Balekjian AY. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980;49(2):175-7.

Dahlén G, Bergenholtz G. Endotoxic activity in teeth with necrotic pulps. *J Dent Res* 1980;59(6):1033-40.

Dahlén G, Samuelsson W, Molander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol* 2000;15(5):309-12.

Dakin, HD. In the use of certain antiseptic substances in the treatment of infected wounds. *Brit Med J* 1915;2(2):318-20.

Dotto SR, Travassos RM, de Oliveira EP, Machado ME, Martins JL. Evaluation of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) solution and gel for smear layer removal. *Aust Endod J* 2007;33(2):62-5.

Druittman AC, Stock CJ. An in vitro comparison of ultrasonic and conventional methods of irrigant replacement. *Int Endod J* 1989;22(4):174-8.

Fabricius L, Dahlén G, Sundqvist G, Happonen RP, Möller AJ. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. *Eur J Oral Sci* 2006;114(4):278-85.

Fairbanks, DCO. Avaliação da capacidade quelante do EDTA, do EDTAC e do EDTA-T pela análise da microdureza da dentina radicular. [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 1995.

Ferrari PH, Cai S, Bombana AC. Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections. *Int Endod J* 2005;38(6):372-80.

Foley DB, Weine FS, Hagen JC, de Obarrio JJ. Effectiveness of selected irrigants in the elimination of *Bacterioides melaninogenicus* from the root canal system: an *in vitro* study. *J Endod* 1983;9:236-41.

Fukumoto Y, Kikuchi I, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. An ex vivo evaluation of a new root canal irrigation technique with intracanal aspiration. *Int Endod J*. 2006;39(2):93-9

Fulghum RS.; Wiggis CB.; Mullaney TP. Pilot study of detecting obligate anaerobic bacteria in necrotic dental pulps. *J. Dent. Res*;1973;52(61): 637.

Gatot A, Arbelle J, Leiberman A, Yanai-Inbar I . Effects of sodium hypochlorite on soft tissue after its inadvertent injection beyond the root apex. *J Endod* 1991;17: 573-4.

Gavini G. Avaliação in vitro da limpeza da parede do canal radicular (terço apical), após o preparo químico-mecânico, valendo-se da microscopia eletrônica de varredura, tendo como fonte de variação a solução irrigadora e seu volume [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1992.

Gavini, G. Análise in vitro da limpeza do terço apical do canal radicular, quanto a remoção do magma dentinário, a luz da microscopia eletrônica de varredura, tendo como fonte de variação o regime de irrigação e as soluções irrigantes [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1994.

Goldman M, Kronman JH, Goldman LB, Clausen H, Grady J. New method of irrigation during endodontic treatment. *J Endod* 1976;2(9):257-60.

Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB .Positive and negative associations between bacterial species in dental root canals. *Microbios*1994a;80(325):231-43.

Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB. Associations of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int Endod J* 1994b;27(6):291-8.

Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB. Clinical significance of dental root canal microflora. *J Dent* 1996a;24(1-2):47-55.

Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int Endod J* 1996b ;29(4):235-41.

Gomes BPFA, Drucker DB, Liley JD. Association of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. *Int Endod J* 1996a;29:69-75.

Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-filho FJ. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2001;34:424-8.

Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB. Recovery of *Porphyromonas endodontalis* and *Porphyromonas gingivalis* by two different sampling techniques. *J Dent Res* 1995; 74:848.

Gomes BPFA. Microrganismos: quais são, onde estão e que danos causa?. In: Cardoso RJA; Gonçalves EAN. (Org). *Endodontia & Trauma* 1^aed. São Paulo:Artes Medicas; 2002.

Guerisoli DM, Marchesan MA, Walmsley AD, Lumley PJ, Pecora JD. Evaluation of smear layer removal by EDTAC and sodium hypochlorite with ultrasonic agitation. *Int Endod J* 2002;35(5):418-21.

Hauman CHJ , Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *Int Endod J* 2003; 36:75-85.

Heling B, Shapiro S, Sciaky I. An In Vitro Comparison Of The Amount Of Calcium Removed By The Disodium Salt Of Edta And Hydrochloric Acid During Endodontic Procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;19:531-3.

Hill PK. Endodontics. *J Prosth Dent* 1959;9(3):142.

Hülsmann M, Rummelin C, Schäfers F. Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments: a comparative SEM investigation. *J Endod* 1997;23(5):301-6

Hülsmann M, Stryga F. Comparison of root canal preparation using different automated devices and hand instrumentation. *J Endod* 1993;19(3):141-5.

Ingle JI , Taintor J. *Endodontia*. 3ª ed. Rio de Janeiro Guanabara; 1985.

Jung IY, Choi BK, Kum KY, Roh BD, Lee SJ, Lee CY, et al. Molecular epidemiology and association of putative pathogens in root canal infection. *J Endod* 2000;26(10):599-604.

Takehashi S, Stanley H R , Fitzgerald RJ . The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965 ;20:340-9.

Khademi AA, Mohammadi Z, Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. *Aust Endod J* 2006 ;32(3):112-5.

Kuga MC, Fraga SC, Duarte MAH, Alegria MSH. Influência do método de irrigação final no selamento apical proporcionado pelo Endomethasone®. *RBO* 1999; 56(2): 65-8.

Lauretti MB, Alvares S, Paiva JG, Araújo NS. Potencial irritativo do creme de Endo PTC neutralizado pelo Líquido de Dakin, seguido de irrigação com tergentol-furacin, sobre o conjuntivo de ratos *Rev Assoc Paul Cir Dent* 1975;29(1):8-13.

Lehman JW , Gerstein H. An evaluation of a new mechanized endodontic device: the Endolift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;53(4):417-24

Lopes HP, Siqueira Jr F. *Endodontia: Biologia e técnica; Endodontia: Biologia e técnica*, 2ª ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan/Medisi,2004.

Love RM. *Enterococcus faecalis*- a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J* 2001; 34: 399-405.

Marchesan MA. Estudo, por meio da microscopia óptica, do efeito da irradiação do laser er:yag sobre a limpeza dos canais radiculares.[Dissertação de mestrado] Ribeirão Preto . Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2002.

Marques AMC. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de soluções à base de clorexidina em diferentes concentrações sobre microorganismos frequentemente encontrados no canal radicular. Estudo in vitro. [Dissertação de Mestrado]. Salvador: Faculdade de Odontologia Universidade Federal da Bahia; 1997.

Marsh P ,Martin M. Oral microbiology. 3rd.London:UK: Champan and Hall; 1992.

Mayer BE, Peters OA, Barbakow F.Effects of rotary instruments and ultrasonic irrigation on debris and smear layer scores: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 2002;35(7):582-9.

McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975;1(7):238-42.

Menezes AC, Zanet CG, Valera MC. Smear layer removal capacity of disinfectant solutions used with and without EDTA for the irrigation of canals: a SEM study. *Pesqui Odontol Bras* 2003;17(4):349-55.

Miller WD. An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. *Dental Cosmos* 1894; 36: 505-28.

Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998; 31:1-7.

Moller AJR. Microbiological examination of root canals and periapical tissies of human teeth. Goteborg, Ed. Elanders Boktryckeri Aktiebolag; 1966.

Moodnik RM, Dorn SO,Feldman MJ, Levey M, Borden BG. Efficacy of biomechanical. instrumentation: a scanning electron microscopic study. *J Endod* 1979; 2(9):261-6.

Moorer WR, Wesselink PR. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int Endod J* 1982;15(4):187-96.

Morse DR. Microbiology and Pharmacology. In: Cohens S & Burns RC, eds. *Pathways of the pulp*. 4th edn. St. Louis: Mosby Co;1987.

Moura AAM, Prokopowitsch I, Aun CE, Lutfi Filho M. Análise in vitro da permeabilidade dentinária radicular em dentes instrumentados com e sem uso de EDTAC. *Rev Paul Odont* 1988;10(6):18-24.

Naumovich DB. Surface tension and of drugs in root canal therapy. *Oral Surg* 1963;16(2):965-8.

Nunes RL. Avaliação comparativa dos efeitos derivados da aplicação de algumas substâncias irrigadoras de uso endodôntico no conjuntivo subcutâneo de ratos. São Paulo. [Tese de Doutorado]São Paulo:.Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. 2002.

Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JA. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. *Int Endod J* 2004 ;37(1):38-41.

Østby NB. Chelation in root canal therapy. Ethylenediamine tetra-acetic acid for cleansing and widening of root canals. *Odont Tidskrift* 1957;65(2):3-11.

Paiva JG, Antoniazzi JH. Endodontia, bases para a prática clínica. São Paulo: Artes médicas Ltda;1991.

Paiva JG, Antoniazzi JH. O uso de uma associação de peróxido de uréia e detergente (Tween 80) no preparo químico mecânico dos canais radiculares. *Rev. Assoc Paul Cirurg Dent* 1973;27(7):416-22.

Pashley EL . Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. *J Endod* 1985; 11(12): 525-8.

Pataky L, Iványi I, Grigár A, Fazekas A. Antimicrobial efficacy of various root canal preparation techniques: an in vitro comparative study. *J Endod* 2002 ;28(8):603-5.

Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J* 2001;34(6):429-34.

Pesce HF, Medeiros JMFJ, Bombana AC .Influence of the use of endo PTC on the periapical seal of root canals. *Braz Endod J* 1997; 2(1): 29-30.

Peters OA, Barbakow F.Effects of irrigation on debris and smear layer on canal walls prepared by two rotary techniques: a scanning electron microscopic study. *J Endod* 2000 ;26(1):6-10.

Prinz H. New method of irrigation during endodontic treatment. *Dent Cosmos* 1912;75(1):21-9.

- Prokopowitsch I, Moura AAM, Muench A. Análise in vitro da permeabilidade dentinária do terço apical, tendo como fonte de variação a substância química auxiliar da instrumentação. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1989;3(2):345-53.
- Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Habahbeh N, Qualtrough A, Worthington H, et al. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *actinomyces israelii*, *a naeslundii*, *candida albicans* and *enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2004;37:438- 46.
- Ram Z .Effectiveness of root canal irrigation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977;44(2):306-12.
- Rams TE, Feik D, Young V, Hammond BF, Slots J. Enterocci in human periodontitis. *Oral Microbio Immuno* 1992;7:249-52.
- Ranta K, Haapasalo M, Renta H. Monoinfection of root canal with *Pseudomonas aeruginosa*. *Endod Dent Traumatol* 1988;4(6):269-72.
- Richman MJ. Use of ultrasonic in root canal therapy and root resection. *J Dent. Med.* 957;12(1):12-8.
- Robazza CRC, Paiva JG, Antoniazzi JH. Variações na permeabilidade da dentina radicular quando do emprego de alguns fármacos auxiliares do preparo endodôntico. Contribuição ao estudo. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 1981;35(6): 528-33.
- Rosenfeld EF, James GA, Burch BS.Vital pulp tissue response to sodium hypochlorite. *J Endod* 1978;4(5):140-6.
- Ruoff KL, de la Maza L, Murtagh MJ, Spargo JD, Ferraro MJ .Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *J Clinl Microbiol* 1990;28:435-7.
- Salzgeber RM, Brilliant JD.An in vivo evaluation of the penetration of an irrigating solution in root canals. *J Endod* 1977;3(10):394-8.
- Scelza MF, Antoniazzi JH, Scelza P. Efficacy of final irrigation-a scanning electron microscopic evaluation. *J Endod* 2000;26(6):355-8.
- Schäfer E, Schlingemann R. Efficiency of rotary nickel-titanium K3 instruments compared with stainless steel hand K-Flexofile. Part 2. Cleaning effectiveness and shaping ability in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J* 2003;36(3):208-17.

Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J* 2005;38(10):735-42.

Sen BH, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Endod Dent Traumatol* 1995;11(1):6-9.

Sena, NT. Estudo *in vitro* da atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio e da clorexidina usados como substâncias químicas auxiliares frente a biofilmes de espécie única. Piracicaba [Dissertação de Mestrado]. São Paulo:UNICAMP;2004.

Senia SE, Marshall JF, Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp of extracted teeth. *Oral Surg* 1971;31(1):96-103.

Serper A, Calt S, Dogan AL, Guc D, Ozçelik B, Kuraner T. Comparison of the cytotoxic effects and smear layer removing capacity of oxidative potential water, NaOCl and EDTA. *J Oral Sci* 2001;43(4):233-8.

Siqueira EL. Dissolução de tecido pulpar bovino por duas composições químicas utilizadas em Endodontia [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo;2004.

Siqueira EL. Dissolução de tecido pulpar bovino por duas composições químicas utilizadas em Endodontia [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo;2004.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Paiva SS, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;104(1):122-30.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Santos SR, Lima KC, Magalhães FA, de Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod* 2002;28(3):181-4.

Siqueira Jr JF, Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod* 1997;23:167-9.

Siqueira Jr, Rôças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bactericidal population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2,5%, and 5,25% sodium hypochlorite. *J Endod* 2000;26(6):331-4.

Siren EK, Haapasalo MPP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo ENJ. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J* 1997;30:91-5.

Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M, Zehnder M. The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. *J Endod* 2005;31(9):669-71.

Stewart GG, Kapsimalas P, Rappaport H. EDTA and urea peroxide for root canal preparation. *J Am Dent Assoc* 1969;78(2):335-8.

Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod* 2006 ;32(2):93-8.

Sundqvist G, Eckerbom MI , Larsson AP, Sjögren UT. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. *Infec. Immun* 1979;25(21):685-93.

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 Oral Radiol Endod* 1998 ;85(1):86-93

Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps.[Dissertação de Mestrado]. Suecia:University of Umeo;1976.

Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol* 1992;7(5):257-62.

Sundqvist, G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;78(4):522-30.

Svec TA, Harrison JW. Chemomechanical removal of pulpal and dentinal debris with sodium hypochlorite and hydrogen peroxide vs normal saline solution.*J Endod* 1977;3(2):49-53.

Tronstad L, Kreshtool D, Barnett F. Microbiological monitoring and results of treatment of extraradicular endodontic infection. *Endod Dent Traumatol.* 1990 ;6(3):129-36.

Turek T, Langeland K. A light microscopic study of the efficacy of the telescopic and the Giromatic preparation of root canals. *J Endod* 1982;8(10):437-43.

Valera MC, Leonardo MR, Bonetti Filho I. Cimentos endodônticos - selamento marginal apical imediato e após armazenamento de seis meses. Rev Odontol Univ São Paulo 1998;12(4):355-60.

Van der Sluis LW, Gambarini G, Wu MK, Wesselink PR. The influence of volume, type of irrigant and flushing method on removing artificially placed dentine debris from the apical root canal during passive ultrasonic irrigation. Int Endod J 2006 ;39(6):472-6.

Von Fehr FR, Østby NB. Effect of EDTAC and sulfuric acid on root canal dentine. Oral Surg 1963;16(2):199-205.

Walker A. A definite and dependable therapy for pulpless teeth. J Am Dent Assoc. 1936;23(2):1418-25.

Waltimo T, Trope M, Haapasalo M, Ørstavik D. Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. J Endod 2005;31(12):863-6.

Weine FS, Kelly RF, Bray KE. Effect of preparation with endodontic handpieces on original canal shape. J Endod 1976;2(10):298-303.

Weinreb MM, Meier E. The relative efficiency of edta, sulfuric acid, and mechanical instrumentation in the enlargement of root canals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1965;19:247-52.

Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin SP. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions. Part 3. J Endod 1983;9(4):137-42.

Zehnder M, Schicht O, Sener B, Schmidlin P. Reducing surface tension in endodontic chelator solutions has no effect on their ability to remove calcium from instrumented root canals. J Endod 2005;31(8):590- 2.

Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod 2006;32(5):389-98.

Zoletti GO, Siqueira JF Jr, Santos KR. Identification of Enterococcus faecalis in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and-independent approaches. J Endod 2006;32(8):722-6.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

**PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 52/06**

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa "Avaliação da desinfecção do canal radicular frente a preparo químico-cirúrgico por meio rotatório associado ou não a tratamento químico complementar", de responsabilidade do Professor Doutor **Antonio Carlos Bombana**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 03 de maio de 2006


Prof.Dr. **Rogério Nogueira de Oliveira**
Coordenador do CEP-FOUSP

APÊNDICE A - Estimativa de numero de unidades formadoras de colônias (UFCs)

Grupo 1 - Apenas instrumentação rotatória								
Unidades formadoras de colônias								
ANTES								
Dente	31/05/2007				01/06/2007			
	1	2	3	4	5	6	7	8
Amostra 1	40x10 ⁶	391 x10 ⁵	175 x10 ³	280 x 10 ⁷	170,3 x10 ⁶	173 x10 ⁶	58x10 ⁷	23 x10 ⁶
Amostra 2	32x10 ⁶	395 x10 ⁵	197 x10 ³	287 x 10 ⁷	162,5x10 ⁶	149 x10 ⁶	62x10 ⁷	16 x10 ⁶
Amostra 3	22x10 ⁶	308 x10 ⁵	188 x10 ³	294 x 10 ⁷	148,1x10 ⁶	143 x10 ⁶	63x10 ⁷	15 x10 ⁶
TOTAL	94x10 ⁶	1086 x10 ⁵	560 x10 ³	861 x 10 ⁷	480,9x10 ⁶	465 x10 ⁶	183x10 ⁷	54 x10 ⁶
MEDIA	31,1x10 ⁶	362x10 ⁵	186,6x10 ³	287x10 ⁷	160,3x10 ⁶	155 x10 ⁶	61x10 ⁷	18x10 ⁶
DEPOIS								
Dente	1	2	3	4	5	6	7	8
Amostra 1	13 x 10 ⁵	398 x10 ⁴	136 x10 ²	81 x10 ⁵	110 x10 ⁵	61 x10 ⁵	148 x10 ⁵	23 x10 ⁵
Amostra 2	12 x 10 ⁵	395 x10 ⁴	122 x10 ²	65 x10 ⁵	108 x10 ⁵	47 x10 ⁵	170 x10 ⁵	23 x10 ⁵
Amostra 3	13 x 10 ⁵	362 x10 ⁴	149 x10 ²	146 x10 ⁵	121 x10 ⁵	63 x10 ⁵	168 x10 ⁵	21 x10 ⁵
TOTAL	38 x 10 ⁵	1155 x10 ⁴	407 x10 ²	213 x10 ⁵	339 x10 ⁵	171 x10 ⁵	486 x10 ⁵	66 x10 ⁵
MEDIA	12,6 x10 ⁵	385 x10 ⁴	135,6 x10 ²	71 x10 ⁵	113 x10 ⁵	57 x10 ⁵	162 x10 ⁵	22 x10 ⁵

Grupo 2 - Instrumentação rotatória seguida de condicionamento químico da dentina								
Unidades formadoras de colônias								
ANTES								
Dente	31/05/2007				01/06/2007			
	1	2	3	4	5	6	7	8
Amostra1	78,1 x10 ⁶	182,5x10 ⁶	181x10 ⁶	713 x10 ⁷	62 x10 ⁷	126 x10 ⁷	51 x10 ⁷	133 x10 ⁷
Amostra 2	70,8 x10 ⁶	176,0x10 ⁶	207x10 ⁶	853 x10 ⁷	70 x10 ⁷	97 x10 ⁷	38 x10 ⁷	154 x10 ⁷
Amostra 3	74,6 x10 ⁶	171,0x10 ⁶	197x10 ⁶	612 x10 ⁷	72 x10 ⁷	126 x10 ⁷	40 x10 ⁷	121 x10 ⁷
TOTAL	223,5x10 ⁶	529,5x10 ⁶	585x10 ⁶	2178x10 ⁷	204 x10 ⁷	330 x10 ⁷	129 x10 ⁷	408 x10 ⁷
MEDIA	74,5 x10 ⁶	176,5x10 ⁶	195 x10 ⁶	726x10 ⁷	68 x10 ⁷	110 x10 ⁷	43 x10 ⁷	136 x10 ⁷
DEPOIS								
Dente	1	2	3	4	5	6	7	8
Amostra1	30 x10 ⁴	423 x10 ⁴	625 x10 ⁴	59 x10 ²	88 x10 ⁵	297 x10 ⁵	37 x10 ⁵	331 x10 ⁵
Amostra 2	37 x10 ⁴	452 x10 ⁴	673 x10 ⁴	48 x10 ²	86 x10 ⁵	377 x10 ⁵	40 x10 ⁵	351 x10 ⁵
Amostra 3	32 x10 ⁴	423 x10 ⁴	649 x10 ⁴	46 x10 ²	87 x10 ⁵	316 x10 ⁵	35 x10 ⁵	362 x10 ⁵
TOTAL	99 x10 ⁴	1272x10 ⁴	1947 x10 ⁴	153 x10 ²	261x10 ⁵	990 x10 ⁵	112x10 ⁵	1044x10 ⁵
MEDIA	33 x10 ⁴	424 x10 ⁴	649 x10 ⁴	51 x10 ²	87 x10 ⁵	330 x10 ⁵	37,3 x10 ⁵	348 x10 ⁵

APÊNDICE B - Água Peptonada/250ml

Água destilada	250 mL
Triptone	0,65 g
Peptone.....	0,65 g
Cloreto de sódio.....	1,25 g

Todos os componentes foram aquecidos em banho maria até dissolver por completo. Dispensado em tubo e autoclavado a 121 °C durante 25 minutos. Essa solução foi empregada para as diluições_antes do preparo químico-cirúrgico e o mesmo

APÊNDICE C-Tryptic Soy Agar (TSA)/ 300 ml

Tryptone soja	9 g
Etrato de levedura	1,8 g
Agua destilada	300mL
ágar	4,5 g

Em balança analítica, pesaram-se 9g de tryptone soja, 1.8g de extrato de levedura e 4,5g de ágar , que foram colocados em Erlenmeyer acrescido de 300 mL de água destilada. Com o auxílio de um bastão de vidro foi dissolvido o pó completamente. O frasco foi fechado e esterilizado em autoclave a 121 °C, por 15 minutos. Em seguida, foram distribuídos em placas de Petri.

Esse meio foi utilizado para semear as alíquotas das diluições a fim de observar o crescimento bacteriano.

APÊNDICE D-Tryptic Soy Broth (TSB)/300ml

Tryptone soja	9 g
Extrato de levedura	1,8 g
H ₂ O	300mL

Em balança analítica, pesaram-se 9g de tryptone soja e 1.8g de extrato de levedura, que foram colocados em Erlenmeyer acrescido de 300 mL de água destilada. Com o auxílio de um bastão de vidro foi dissolvido o pó completamente. O frasco foi fechado e esterilizado em autoclave a 121 °C, por 15 minutos. Em seguida, e deixado esfriar e armazenado em geladeira. No momento do uso era aquecido em banho maria. Esse meio foi empregado para

Para o preparo do inóculo e inoculação dos espécimes.