**“AVALIAÇÃO COMPARATIVA *IN VIVO* DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DO HIPOCLORITO DE SÓDIO A 1%, DA
CLOREXIDINA A 2% E DO DETERGENTE DERIVADO DO
ÓLEO DE MAMONA A 10%, UTILIZADOS COMO
SOLUÇÕES IRRIGADORAS EM ENDODONTIA.”**

DANIELI COLAÇO RIBEIRO SIQUEIRA

*Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia de Bauru,
Universidade de São Paulo, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Odontologia, área
de Endodontia.*

(Edição Revisada)

***BAURU
2005***

**“AVALIAÇÃO COMPARATIVA *IN VIVO* DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DO HIPOCLORITO DE SÓDIO A 1%, DA
CLOREXIDINA A 2% E DO DETERGENTE DERIVADO DO
ÓLEO DE MAMONA A 10%, UTILIZADOS COMO
SOLUÇÕES IRRIGADORAS EM ENDODONTIA.”**

DANIELI COLAÇO RIBEIRO SIQUEIRA

*Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia de Bauru,
Universidade de São Paulo, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Odontologia, área
de Endodontia.*

(Edição Revisada)

Orientador: Prof. Dr. Norberti Bernardineli

***BAURU
2005***

Siqueira, Danieli Colaço Ribeiro

Si75e “Avaliação comparativa *in vivo* da atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 1%, da Clorexidina a 2% e do detergente derivado do óleo de mamona a 10%, utilizados como soluções irrigadoras em Endodontia”-- Bauru, 2005.
110p.: il.;

Dissertação. (Mestrado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru. USP.

Orientador: Prof. Dr. Norberti Bernardineli.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.

Assinatura do autor:

Data:

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa: 29/10/2003

DANIELI COLAÇO RIBEIRO SIQUEIRA

21 de julho de 1973
Bauru - SP

Nascimento

1992 - 1995

Curso de Graduação em
Odontologia - Faculdade de
Odontologia de Lins

1996 - 1997

Curso de Especialização em
Endodontia - Faculdade de
Odontologia de Bauru (USP)

2000 - 2001

Curso de Especialização em
Radiologia - Associação Brasileira
de Ensino Odontológico (ABENO)

2003 - 2005

Curso de Pós-graduação em
Odontologia, na área de
Endodontia, em nível de Mestrado,
na Faculdade de Odontologia de
Bauru - USP

Associações

APCD - Associação Paulista dos
Cirurgiões-Dentistas
SBPqO - Sociedade Brasileira de
Pesquisa Odontológica

Dedico este trabalho

A Deus, pela vida.

E a **alguém muito especial** que está junto dele.

Uma grande mulher.

Seu espírito iluminado guia a minha vida todos os dias.

Dedico e agradeço este trabalho

Aos meus queridos pais, **João Reynaldo Ribeiro e Ana Francisca Colaço Ribeiro**. Ninguém melhor do que vocês para saber o quanto este momento é importante para mim e sem dúvida alguma, vocês são os maiores responsáveis para que eu pudesse realizar este sonho.

Pai, você é o maior e o melhor exemplo que um filho poderia ter de paciência e disponibilidade para ajudar as pessoas. Você me ensinou o valor do trabalho, do sacrifício e da perseverança na conquista de um ideal. Sua integridade moral faz de você um grande homem. Uma referência de honestidade que eu espero poder ensinar para os meus filhos assim como você fez comigo.

Mãe, você me mostrou que tudo o que fazemos com amor, boa vontade e dedicação sempre valerá a pena. Que sempre haverá alguém para te oferecer um sorriso, porque você me ensinou a sorrir para todos sempre. Sua alegria de viver e seu amor incondicional por nós me fizeram entender o que é ser mãe. Não poderia esperar nada diferente disso.

... simplesmente **OBRIGADO**.

Ao meu amor **Danilo Furquim Siqueira**.

O melhor **marido** que eu poderia sonhar, companheiro sempre, amigo de todas as horas. Que não mede esforços nunca para me ajudar, me faz sentir amada todos os dias sempre....

Um exemplo de **profissional** que, com muita paciência me ajudou diretamente na execução e finalização deste trabalho. Sem sua experiência eu não teria chegado até aqui....

Ao **PAI** maravilhoso que você tem sido... com certeza o Felipe já pode sentir a intensidade do seu amor por ele....

**MEU AMOR ETERNO ... DO TAMANHO DO MUNDO...
E MUITO, MUITO MAIS....**

Dedico este trabalho também

Ao meu filho **Felipe**

A concretização do sonho de ser mãe....

Sua existência dentro de mim é a maior alegria da minha vida.

Obrigada por você estar aqui comigo.

Agradecimento Especial

A minha irmã Renata, um exemplo de coragem.

Mesmo estando muito longe, sinto sua presença todos os dias. Uma ligação eterna.... mesmo quando não há ninguém... sei que tenho você.... e o que é melhor: a qualquer hora!

Agradeço pelo amor e preocupação comigo sempre.

Obrigada pelo amor.

Agradecimento Especial

Ao Prof. Dr. **Norberti Bernardineli**, um grande mestre, exemplo de bondade e alegria. Agradeço pela oportunidade de realização desta pesquisa e pela liberdade de escolha da mesma, depositando tanta confiança em mim. Muito obrigado pelos grandes ensinamentos transmitidos, que foram fundamentais para a minha formação profissional. O senhor esteve presente em etapas muito especiais da minha vida.

Meu eterno reconhecimento.

Agradecimento Especial

Ao Prof Dr. **Sérgio Aparecido Torres**, co-orientador deste trabalho, acreditou em mim sempre. Com rigor e disciplina me deu todos os conhecimentos necessários em microbiologia para que pudesse chegar até aqui. Nunca esquecerei a sua atenção e o carinho. Espero ter correspondido as suas expectativas.

Minha eterna gratidão.

À **Renata Maluf**, nossa grande madrinha, uma mulher batalhadora. Sempre presente em todas as etapas da minha vida, **nunca** mediu esforços para nos ajudar. Você realmente faz por merecer este “título”. Aos meus primos **Rodrigo e Débora** minha família aqui em Bauru. Meu amor por vocês é enorme;

Às minhas avós, **Mariquinha, Zaira e Iria**, três mulheres tão diferentes que sempre me brindaram com muito amor, mesmo que distantes. Obrigada por vocês existirem;

Ao meu sogro **Nilson Siqueira** e a minha sogra **Vera Lúcia Furquim Siqueira** por terem me acolhido como **filha** e serem tão presentes em minha vida. Agradeço pelo convívio maravilhoso e por serem tão especiais. Tenho muito orgulho e sorte por ter vocês por perto;

Ao meu cunhado **Rafael Furquim Siqueira** e sua esposa **Luciana Teixeira Siqueira**, exemplos de perseverança e luta por seus ideais. Têm nos brindado com sua companhia e alegria de viver;

Aos meus cunhados **Ronis Furquim Siqueira** e **Andréa Laurindo**, e **sobrinhos Emanuela e João Henrique**, a distância nunca impediu nosso amor. Obrigada pelo incentivo sempre;

Aos meus tios, **Nenê, Cristina, Rosário e Cláudio**, mesmo distantes, estiveram sempre presentes em meu coração. Pena que não temos a oportunidade de um convívio mais próximo. Meu carinho por vocês é eterno;

Aos meus “tios”, **Gastão Moura Neto e Rosana Maria Furquim Moura**, e **seus filhos Gui e Isa, Rê e Léo**, já fazem parte da minha família. Obrigada por terem me acolhido e sempre acreditarem em meu potencial. Vindo de vocês não esperaria outra coisa;

Aos meus primos, **Tiago e Roberta**, e **Diego**, a presença de vocês conforta a distância que temos da nossa família. Sempre dispostos a nos ajudar. São exemplos de lutadores. Obrigada por todos os momentos de alegria;

À **Renata Rodrigues de Almeida-Pedrin e Fernando Pedrin**, pela amizade de todos estes anos e pelo futuro de esperanças....

Que nossos filhos possam crescer juntos, com amor.

A nossa amiga **Rê Aleixo**, um exemplo de disponibilidade e atenção. Esperamos sempre contar com a sua amizade. Obrigada.

Aos nossos afilhados: **Amélio Borges Taveira e Meliza**. Uma nova amizade, mas muito intensa. “Turquino”, agradeço pelo apoio e companheirismo nestes anos de mestrado.

Aos meus “primos”, **Gustavo Ariano Moura, Ana Lúcia Ravanini Moura e Mari**, por nos apoiarem sempre. O tempo foi capaz de nos aproximar e esta amizade se fortalecer;

Aos meus **familiares**, que sempre torceram por mim, mesmo que a distância;

Agradeço também:

Ao Professor Doutor **José Carlos Pereira**, presidente da comissão de Pós-graduação, pela dedicação em prol da formação acadêmica dos pós-graduandos da FOB-USP;

À Professora Doutora **Maria Fidela de Lima Navarro**, Diretora da Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo;

Aos docentes da disciplina de Endodontia, **Professores Doutores Clovis Monteiro Bramante, Ivaldo Gomes de Moraes, Roberto Brandão Garcia**, pela amizade, atenção, paciência e pela transmissão dos conhecimentos necessários para a minha formação em Endodontia;

A todos os **professores do Curso de Pós-Graduação**, pelos ensinamentos e experiências compartilhadas, em especial ao professor **José Roberto Pereira Lauris**, pela disponibilidade e atenção na orientação da análise estatística dos dados desta pesquisa;

Aos funcionários da Disciplina de Endodontia: **Sueli, D. Neide, Patrícia e Edmauro** pelo carinho e amizade desde os tempos da especialização. Agradeço também pelos serviços prestados, auxiliando na realização deste trabalho;

Aos funcionários da Disciplina de Microbiologia: **Dalva e André**, por me receberem e ajudarem sempre. A parte laboratorial da pesquisa dependeu muito do trabalho de vocês. Serei grata sempre;

Aos funcionários da Biblioteca: **Rita, Valéria, Tereza, Cibeles, Maristela, César e Ademir**, pelas constantes orientações, essenciais para a concretização desta pesquisa; **Vera**, pelo carinho, amizade;

Aos funcionários da **Pós-Graduação**, pelos serviços essenciais e pela cordialidade que sempre me dispensaram, principalmente pela especial atenção agora na finalização da minha dissertação ;

Aos funcionários da Escola Perfil (SPO – Botucatu), em especial ao **Jú, Débora, Sara** que sempre me receberam com carinho e alegria, e pelo apoio direto nos trabalhos de meu marido;

Aos amigos do Curso de Mestrado em Endodontia, **Adriana, Augusto, Eduardo, Jácio, Luciano, Norberto e Thais** pelo convívio e amizade durante estes anos;

Aos colegas de Mestrado, **Luciana, Renata Fauchete, Fernando Torres e Marcelo Zanda** pela amizade e união nestes anos;

Aos amigos e padrinhos **Paulo Eduardo Guedes Carvalho e Vanessa**, por todos os momentos bons que passamos juntos;

Aos amigos e padrinhos **Roberto Bombonatti e Juliana Fraga Bombonatti**, mesmo distantes, estão em nossos corações;

Às minhas amigas do consultório: **Camila Bortoliero Ventrice, Nathália Mauad Svizzero, Marina Vaz de Lima e Silvia Cristina dos Santos Gonsálves**, pela oportunidade de convivermos juntas. Sinto saudades;

Aos tios e amigos de Bauru: **Rosa e Wilson; Dalva; Moema, Euclides, Rafael e Mércia; Lurdinha e Adalberto; Marici, Claudine, Zé e Nicoli**, por me brindarem com sua amizade sempre;

À amiga **Terê**, sempre disponível. Em todos os momentos importantes que tenho vivido. Minha eterna gratidão;

Aos meus “padrinhos” **Marco e Ceminha** que sempre me trataram com muito carinho. Vocês estão em meu coração;

Aos sempre atenciosos **Marcos e Amélia** pela atenção e paciência na impressão deste trabalho;

Aos **pacientes**, sem eles esta pesquisa seria impossível;

À **CAPES**, pela concessão da bolsa de estudo durante o curso de Mestrado, imprescindível para a realização deste trabalho;

A **todos os demais** colegas, amigos, funcionários, acadêmicos, pós-graduandos, que convivi durante estes anos, que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste sonho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xviii
LISTA DE FIGURAS	xxi
RESUMO	xxiv
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 - Microbiologia das infecções endodônticas.....	6
2.2 - Soluções irrigadoras utilizadas no controle da infecção em endodontia.....	20
3 - PROPOSIÇÃO	37
4 - MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1 - Procedimentos Clínicos	40
4.2 - Procedimentos Laboratoriais.....	51
4.2.1 - Preparo dos meios de cultura utilizados.....	51
4.2.2 - Processamento Microbiológico	53
4.3 - Análise dos Resultados	59
4.3.1 – Análise Estatística.....	59
5 - RESULTADOS	60
6 - DISCUSSÃO	79
6.1 - Da Metodologia	82
6.2 - Dos Resultados	87
6.2.1. - Comparação intragrupos	87

6.2.2. - Comparação intergrupos	94
7 - CONCLUSÕES	97
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
ABSTRACT	109

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 1 (Hipoclorito de sódio a 1,0%), nos três tempos de colheita.....	62
TABELA 2 - Contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 2 (digluconato de clorexidina a 2,0%) nos três tempos de colheita.....	62
TABELA 3 - Contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 3 (Endoquil, detergente derivado do óleo de mamona a 10,0%) nos três tempos de colheita.....	63
TABELA 4 - Valores dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 1 (Hipoclorito de sódio a 1,0%), nos três tempos de colheita.....	63
TABELA 5 - Valores dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 2 (Digluconato de Clorexidina a 2,0%), nos três tempos de colheita.....	64
TABELA 6 - Valores dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 3 (Endoquil, detergente derivado do óleo de mamona a 10,0%), nos três tempos de colheita.....	64
TABELA 7 - Valores médios e desvios-padrão em logaritmo das ufc para cada colheita.....	65
TABELA 8 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Anaerobiose para o Grupo 1 (Hipoclorito de sódio a 1,0%).....	70

TABELA 9 - Comparações isoladas entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Student Newman Keuls, em Anaerobiose para o Grupo 1 (Hipoclorito de sódio a 1,0%).....	70
TABELA 10 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Aerobiose para o Grupo 1 (Hipoclorito de sódio a 1,0%).....	71
TABELA 11 - Comparações isoladas entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Student Newman Keuls, em Aerobiose para o Grupo 1 (Hipoclorito de sódio a 1,0%).....	71
TABELA 12 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Anaerobiose para o Grupo 2 (Digluconato de Clorexidina a 2,0%).....	72
TABELA 13 - Comparações isoladas entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Student Newman Keuls, em Anaerobiose para o Grupo 2 (Digluconato de Clorexidina a 2,0%).....	72
TABELA 14 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Aerobiose para o Grupo 2 (Digluconato de Clorexidina a 2,0%).....	73
TABELA 15 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Anaerobiose para o Grupo 3 (Endoquil - Mamona).....	73
TABELA 16 - Comparações isoladas entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Student Newman Keuls, em Anaerobiose para o Grupo 3 (Endoquil - Mamona).....	73

TABELA 17 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Aerobiose para o Grupo 3 (Endoquil - Mamona).....	74
TABELA 18 - Comparações isoladas entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Student-Newman-Keuls, em Aerobiose para o Grupo 3 (Endoquil - Mamona).....	74
TABELA 19 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Anaerobiose no tempo 1.....	76
TABELA 20 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Anaerobiose no tempo 2.....	76
TABELA 21 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Anaerobiose no tempo 3.....	76
TABELA 22 - Comparações individuais entre os três grupos com o teste de Student Newman Keuls, em Anaerobiose no tempo 3.....	77
TABELA 23 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Aerobiose no tempo 1.....	77
TABELA 24 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Aerobiose no tempo 2.....	77
TABELA 25 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Aerobiose no tempo 3.....	78

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - exame radiográfico periapical; imagem sugestiva de lesão periapical.....	45
FIGURA 2 - posicionador e filme utilizados na técnica do Paralelismo.....	45
FIGURA 3 - materiais para antissepsia da cavidade bucal e profilaxia do dente a ser tratado.	45
FIGURA 4 - materiais clínicos.....	46
FIGURA 5 - isolamento absoluto, vedamento interface dente/lençol de borracha e antissepsia do campo operatório.....	47
FIGURA 6 - colheita do material	48
FIGURA 7 - soluções irrigadoras em teste e seus respectivos agentes neutralizadores.....	49
FIGURA 8 - irrigação + odontometria + instrumentação + restauração provisória.....	50
FIGURA 9 - fluxo laminar; criotubo + pérolas de vidro + cones de papel; dessorção; pipeta e ponteira esterilizada.....	55
FIGURA 10 - diluição seriada.....	56
FIGURA 11 - deposição e semeadura nas placas; Tioglicolato de Sódio; incubação em aerobiose e anaerobiose.....	57

FIGURA 12 - colônias bacterianas; contador de colônias; crescimento bacteriano em Tioglicolato e esterilidade do cone de papel.....	58
FIGURA 13 - Valores médios e desvios-padrão em logaritmo das ufc para cada colheita em Anaerobiose.....	65
FIGURA 14 - Valores médios e desvios-padrão em logaritmo das ufc para cada colheita em Aerobiose.....	65
FIGURA 15 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 1, em Anaerobiose.....	66
FIGURA 16 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 1, em Aerobiose.....	66
FIGURA 17 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 2, em Anaerobiose.....	67
FIGURA 18 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 2, em Aerobiose.....	67
FIGURA 19 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 3, em Anaerobiose.....	68
FIGURA 20 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 3, em Aerobiose.....	68
FIGURA 21 - Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 1, nos três tempos colheita em Anaerobiose.....	88
FIGURA 22 - Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 1, nos três tempos colheita em Aerobiose.....	89

FIGURA 23 - Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 2, nos três tempos colheita em Anaerobiose.....	90
FIGURA 24 - Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 2, nos três tempos colheita em Aerobiose.....	91
FIGURA 25 - Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 3, nos três tempos colheita em Anaerobiose.....	92
FIGURA 26 - Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 3, nos três tempos colheita em Aerobiose.....	93

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar comparativamente *in vivo*, o efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio a 1%, da clorexidina a 2% e do detergente derivado do óleo de mamona a 10% (Endoquil) na irrigação de canais radiculares de 18 dentes anteriores superiores humanos com necrose pulpar e lesão periapical visível radiograficamente. Após os procedimentos de antissepsia, realizou-se a abertura coronária e a 1ª colheita microbiológica, utilizando quatro cones de papel esterilizados. A instrumentação foi efetuada com limas tipo K, juntamente com a aplicação de 1,8mL de cada uma das soluções irrigadoras. Em seguida, realizou-se a neutralização das substâncias antimicrobianas e a 2ª colheita microbiológica. Decorridas 72h, efetuou-se a 3ª colheita, e as amostras foram transportadas em solução de PBS. Procedeu-se a diluição decimal seriada e as amostras foram semeadas em placas contendo o meio Tryptic Soy Agar e incubadas em aerobiose e anaerobiose para posterior contagem do número de unidades formadoras de colônia. Baseados na análise dos resultados concluiu-se que: todas as substâncias irrigadoras utilizadas mostraram uma redução significativa do número de bactérias da 1ª para a 2ª colheita, tanto em anaerobiose como em aerobiose, não sendo significativa apenas a clorexidina em aerobiose; da 2ª para a 3ª colheita houve um aumento considerável do número de bactérias, com diferença significativa entre as substâncias irrigadoras tanto em anaerobiose como em aerobiose, não sendo significativa apenas a clorexidina em aerobiose; a constatação do aumento do número de bactérias da 1ª para a 3ª colheita evidenciou que só o preparo biomecânico do canal radicular não foi suficiente para conter a recolonização bacteriana; em relação à 2ª colheita, as três substâncias irrigadoras se comportaram de maneira semelhante na redução do número de microrganismos; em relação à 3ª colheita em anaerobiose, a clorexidina a 2% e o detergente derivado do óleo de mamona a 10% foram significativamente melhores que o hipoclorito de sódio a 1% quanto à presença bacteriana.

1- INTRODUÇÃO

---

1 - INTRODUÇÃO

A necrose pulpar, acontecimento corriqueiro na Endodontia, é na maioria das vezes decorrente da invasão bacteriana e de suas toxinas por meio das lesões de cárie ou qualquer que seja a agressão ao tecido pulpar. Estes microrganismos e seus produtos alcançam a luz do canal e penetram nos canalículos dentinários, propagando-se por todo o sistema de canais radiculares e, invariavelmente, chegam à região periapical.

O efeito prejudicial das bactérias sobre os tecidos pulpares e periapicais vem sendo objeto de estudo desde o século retrasado, quando, em 1894, MILLER⁴⁵ verificou pela primeira vez a presença de microrganismos no interior dos canais radiculares, relacionando-os com a etiologia das alterações pulpares e periapicais.

A partir deste relato, inúmeros estudos foram realizados para a verificação do papel das bactérias na etiopatogenia destas patologias e, graças aos avanços das técnicas de transporte, isolamento e cultivo de microrganismos, SUNDQVIST⁷⁶, em 1976, realizou um estudo revolucionando os conceitos vigentes até então, demonstrando, com uma metodologia bastante completa, o quanto é expressiva a presença de bactérias anaeróbias no interior dos canais radiculares com necrose pulpar.

As pesquisas nesta área evoluíram consideravelmente com o passar dos anos, objetivando a identificação dos microrganismos presentes nestes canais infectados e sua correlação com os achados clínicos. Desta forma, é mister na terapia endodôntica evitar que o processo infeccioso se propague do interior dos canais radiculares em direção aos tecidos perirradiculares. Baseado nestes achados, o tratamento endodôntico, ao utilizar métodos químicos-mecânicos, procura romper o equilíbrio do ecossistema microbiano, promovendo a desinfecção destas regiões e criando um ambiente favorável ao reparo periapical.

Levando em consideração a complexidade da anatomia interna do sistema de canais radiculares, somente a ação mecânica dos instrumentos não seria suficiente para alcançar este objetivo. Desta forma, a limpeza do canal

depende também da ação das soluções irrigadoras, que por meio do somatório de suas propriedades químicas, físicas, biológicas promoverão a tão almejada desinfecção deste sistema.

A seleção de uma solução irrigadora não deve ser aleatória, exigindo do profissional o conhecimento das propriedades da substância eleita. Para elucidar e favorecer esta decisão, a busca por uma solução irrigadora ideal vem sendo o objetivo de inúmeros trabalhos de pesquisa.

O hipoclorito de sódio, em diferentes concentrações, tem sido amplamente utilizado como irrigante desde a sua introdução na Endodontia por WALKER⁸⁷ em 1936, e suas importantes propriedades enfatizadas por inúmeros trabalhos desde então. É uma solução fortemente alcalina, que possui duas características importantes: a habilidade de dissolução de tecido vivo, atribuída a esta alta alcalinidade e a sua propriedade germicida, relacionada com a formação do ácido hipocloroso pela liberação de cloro ativo. A ação antibacteriana deste ácido ocorre por oxidação de enzimas bacterianas que leva à desorganização de seu metabolismo.

Quanto mais elevada a sua concentração, melhor é o efeito antimicrobiano, entretanto, seu emprego deve ser feito de forma criteriosa para evitar que alcance o periápice, causando severa reação inflamatória. Por outro lado, as baixas concentrações, apesar de bem toleradas pelos tecidos, podem reduzir consideravelmente seu poder de desinfecção. Desta forma, são vários os estudos que procuram por substâncias que desempenhem os efeitos benéficos do hipoclorito de sódio, sem que, no entanto, apresentem os efeitos negativos supracitados.

A clorexidina, também em diferentes concentrações, é uma substância alternativa que tem sido largamente empregada por possuir ação antimicrobiana imediata; um amplo espectro de ação sobre bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, anaeróbias, facultativas e aeróbias, leveduras e fungos; relativa ausência de toxicidade; capacidade de adsorção pela dentina e lenta liberação de substância ativa, prolongando sua atividade antimicrobiana residual (substantividade). Entretanto, alguns autores são unânimes em afirmar que ela só não é a solução irrigadora de escolha, porque seu poder

antimicrobiano e seu baixo efeito tóxico, são insuficientes para compensar sua incapacidade de dissolução de matéria orgânica³⁸.

Considerando ainda a busca pela solução irrigadora ideal, e seguindo as orientações da Organização Mundial da Saúde, que recomenda o uso de produtos de origem animal, vegetal ou mineral, a utilização do detergente derivado do óleo de mamona a 10%, desenvolvido no Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, pelo professor Gilberto Orivaldo Chierice, tem sido sugerida não só por suas excelentes propriedades biológicas, como também pela atividade antimicrobiana, demonstrada por FERREIRA et al.²³, em 1999 e LEONARDO et al.⁴³, em 2001.

Sabendo-se que um criterioso preparo químico-mecânico aumenta as chances de diminuição dos microrganismos dos canais radiculares, várias soluções irrigadoras vêm sendo testadas. Muitos destes trabalhos foram realizados *in vitro*, impedindo-nos de fazer uma extrapolação para a realidade clínica, além disso, a variedade de concentrações em que as substâncias se apresentam, acabam por confundir e dificultar a escolha da solução ideal.

Baseados nestas informações e considerando que a solução de hipoclorito a 1%, a solução clorexidina a 2% têm boa ação antimicrobiana e toxicidade relativamente baixa e nos recentes trabalhos, porém escassos, com o detergente derivado do óleo de mamona a 10% mostrando resultados promissores, nos incentivamos a realizar um estudo *in vivo*, para verificar a ação antimicrobiana destas três soluções irrigadoras, utilizadas no tratamento dos canais radiculares com necrose pulpar e lesão periapical.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2 - REVISÃO DE LITERATURA

Neste capítulo, serão abordados dois aspectos: a microbiologia das infecções endodônticas e soluções irrigadoras utilizadas em Endodontia.

2.1 - MICROBIOLOGIA DAS INFECÇÕES ENDODÔNTICAS

A presença de bactérias no sistema de canais radiculares é pesquisada desde o século retrasado, quando já se comprovava seu efeito deletério sobre os tecidos pulpare e periapicais, sendo assim o principal agente etiológico dos problemas endodônticos. Em 1894, MILLER⁴⁵ foi quem primeiro verificou a presença de microrganismos no interior dos canais radiculares, relacionando-os com a etiologia das alterações pulpare e periapicais. Examinando amostras de tecido pulpar, observou uma grande variedade de formas bacterianas, porém sem a possibilidade de cultivá-las em laboratório, devido às limitações dos meios de cultura existentes na época e descreveu uma diferença entre aquelas encontradas em dentes com câmaras pulpare expostas e as localizadas nos canais radiculares, concluindo então, que esta microbiota era específica destas regiões.

Desta forma, já no século passado, a preocupação com a eliminação dos microrganismos durante o tratamento endodôntico, levou ONDERDONK⁵⁴, em 1901 a verificar a possibilidade de controlar as culturas bacterianas durante os tratamentos realizados. Diversos autores^{33,34,88} se preocupavam não só com a presença destes microrganismos, mas também com a sua identificação, e o efeito dos mesmos nos tecidos pulpar e periapical, assim como os possíveis riscos de infecções generalizadas, possivelmente decorrentes de dentes com necrose pulpar, sendo as exodontias consideradas a melhor forma de tratamento para estes casos.

Até a década de 50, as pesquisas estavam relacionadas com amostras bacterianas obtidas de canais radiculares afetados por extensas cavidades cariosas ou por restaurações. Desta forma, observou-se que uma grande quantidade de microrganismos isolados também fazia parte da microbiota normal da cavidade bucal. Algumas variações puderam ser observadas de acordo com a frequência de acometimento em função dos inúmeros estudos efetuados, bem como em função das diferentes técnicas bacteriológicas empregadas. Até então, os meios de cultura e de transporte das amostras colhidas do canal radicular favoreciam o crescimento de microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos, não facilitando, portanto, o isolamento de microrganismos anaeróbios estritos.

Alguns pesquisadores como MORSE; YATES⁴⁹, APPLETON³, FUENDELING; CARTNEY²⁵ e BUCHBINDER⁹ utilizaram meios de cultura para estimular o crescimento de organismos de amplo espectro e com isso, o controle das culturas bacterianas cresceu rapidamente, porém ainda ocorriam falhas em alguns casos, levando a crer que muitos medicamentos utilizados possuíam limitações quanto às suas indicações. A necessidade de agentes antibacterianos era evidente, e por esta razão, mais estudos deveriam ser realizados para aprimorar os conhecimentos sobre a microflora dos canais radiculares.

Em 1957, BROWN; RUDOLPH⁸ utilizaram 70 dentes humanos com necrose pulpar, porém, sem lesões de cárie extensas, sem grandes restaurações ou defeitos anatômicos, com ausência de envolvimento periodontal ou história de trauma, e por meio de culturas aeróbias e anaeróbias, microscopia de contraste de fase de campo escuro e também óptica encontraram bactérias em 90% dos espécimes. Os anaeróbios estritos e facultativos constituíram cerca de 23,9% e os aeróbios 51,3%. Nestes estudos bacteriológicos, eram muito comuns as infecções mistas, entretanto, microrganismos facilmente observados e as formas freqüentemente predominantes microscopicamente não eram possíveis de serem cultivadas.

As pesquisas neste campo evoluíram gradativamente e tornaram-se mais expressivas a partir da década de 60. Para estudar as amostras da microbiota de 57 canais radiculares de 45 pacientes, CRAWFORD; SHANKLE¹⁶, em 1961, utilizaram a microscopia e a cultura em aerobiose e anaerobiose aplicando os conceitos de desinfecção de campo, coletas com cones de papel absorvente e transferência para tubos contendo solução de cisteína ou caldo tioglicolato. As culturas foram feitas em ágar sangue, incubadas em jarras de anaerobiose com solução indicadora de anaerobiose. Os pesquisadores verificaram que o preparo biomecânico promoveu uma marcante diminuição de microrganismos e que, alguns não puderam ser cultivados. *Streptococcus* beta hemolíticos e *Staphylococcus aureus* encontrados na cavidade bucal não estavam presentes nos canais radiculares. Cocos e *Streptococcus* beta não hemolíticos foram os microrganismos mais encontrados na cavidade bucal e canal radicular, tanto pela microscopia quanto pelo crescimento em cultura.

Procurando esclarecer algumas dúvidas a respeito da origem dos microrganismos que invadem os canais radiculares, CHIRNSIDE¹⁴, em 1961, demonstrou por meio de um trabalho experimental a invasão de bactérias nos túbulos dentinários de dentes permanentes desvitalizados. Imediatamente após a extração de cinco pré-molares humanos intactos, removeu o esmalte da superfície oclusal tornando-a áspera para facilitar o acúmulo de placa bacteriana. As coroas foram seccionadas e fixadas na região de molar de uma prótese parcial removível inferior, permitindo a exposição ao meio bucal. Após 3, 4 e 5 semanas, os dentes foram removidos, processados e submetidos à coloração de Gram para análise microscópica. Pôde-se observar formação de placas bacterianas aderidas às superfícies dentinárias expostas e bactérias distribuídas no interior de alguns túbulos dentinários subjacentes, concluindo que, se o processo odontoblástico morre, seguindo a morte da polpa ou agressão periférica e são expostos ao meio bucal, estes ficam propensos à invasão pelas bactérias presentes.

Com o intuito de evidenciar microscopicamente as bactérias no interior dos canais radiculares, SHOVELTON⁶⁶ (1964) selecionou 97 dentes humanos necrosados, cuja extração fora indicada em decorrência de cárie dental ou trauma. Após a descalcificação, realizaram-se cortes seriados transversais e longitudinais nos terços cervical, médio e apical, corando-os alternadamente pelas técnicas de Gram e da Hematoxilina-Eosina. O maior número de microrganismos foi encontrado próximo ao forame, quando comparado à região média e, principalmente, cervical. Além disso, notou que os dentes com agudecimentos possuíam bactérias em seus canais radiculares, porém, a invasão dentinária era menor do que nos processos crônicos e que os dentes com granulomas e destruição óssea visível radiograficamente, exibiam maiores níveis de contaminação nos terços cervical e médio e quase nenhum microrganismo no terço apical. Observou a presença de bactérias em 79 dos 97 dentes estudados e, em 61 destes as extensões de penetração eram variadas. O número de túbulos dentinários que continham microrganismos foi muito variável para cada espécie. Como as bactérias foram encontradas principalmente no canal radicular e na dentina circundante, o autor afirmou que o preparo mecânico do canal radicular poderia remover grande parte dos microrganismos presentes no canal, mas os que estivessem a uma maior profundidade na dentina não seriam removidos, mesmo após a limpeza mais rigorosa.

Valendo-se da microscopia óptica, em 1965, KAKEHASHI; STANLEY; FITZGERALD⁴⁰ observaram a importância de microrganismos na etiologia de patologias pulpares em dentes de rato. Avaliaram os efeitos das exposições cirúrgicas das polpas dentais de ratos *germ-free* e convencionais, em intervalos de 1 a 42 dias, para verificar a influência dos microrganismos na formação de ponte dentinária. Nos animais convencionais, no oitavo dia de exposição, apenas a metade apical das raízes mostrou tecido pulpar vital, enquanto que todas as polpas coronárias mostraram-se necróticas e purulentas. Após o oitavo dia, todos os espécimes apresentaram-se com polpas totalmente necrosadas e formação de granuloma e abscesso. Quanto aos animais *germ-*

free dezoito sobreviveram aos procedimentos operatórios e apresentaram dentes com mínima inflamação pulpar, devido ao ato cirúrgico, porém com vitalidade preservada. Após 14 dias, verificou-se grande quantidade de matriz dentinária desorganizada e barreira de tecido mineralizado isolando remanescente pulpar do meio bucal. Concluíram que a presença ou não da flora microbiana é a maior determinante no processo de reparo nos casos de dentes com exposição pulpar.

MÖLLER apud DAHLÉN; MÖLLER⁴⁶, em 1966, se preocupou em avaliar os métodos utilizados em exames microbiológicos dos canais radiculares e tecidos periapicais. Demonstrou a possibilidade de ocorrência de resultados falso-positivos devido à contaminação, evidenciando a importância da remoção dos resíduos das superfícies dentárias, da presença de campo estéril e uso do isolamento absoluto, além de materiais seladores eficientes. Já os resultados falso-negativos poderiam ocorrer quando havia no canal manipulado, resíduos dos agentes antimicrobianos, mesmo em baixas concentrações, sendo necessário, portanto, o uso de inativadores utilizados durante a irrigação.

Á partir da década de 70, a manipulação dos microrganismos isolados dos canais radiculares começou a ser aprimorada com o trabalho de WITTGOW; SABISTON⁹⁰, em 1975, que se propuseram a investigar a microbiota de dentes humanos necrosados por meio de cultura. Das 40 amostras encontraram crescimento microbiano em 32, sendo que os bacilos Gram-negativos anaeróbios incluindo espécies de *Bacteróides*, *Fusobacterium* e *Campylobacter sputorum* se fizeram presentes em 84% das amostras. Outros anaeróbios encontrados foram bacilos Gram-positivos; cocos Gram-positivos e cocos Gram-negativos. Os autores sugeriram precauções durante a terapia endodôntica devido à grande frequência de patógenos nos espécimes analisados para evitar o transporte dos mesmos através do ápice radicular, introduzindo-os no osso alveolar.

Graças os avanços das técnicas de transporte, isolamento e cultivo de anaeróbios estritos, SUNDQVIST⁷⁶, em 1976, realizou um estudo clássico que revolucionou os conceitos vigentes até então. Com uma metodologia mais completa, demonstrou o quanto é expressiva a presença das bactérias anaeróbias no interior dos canais radiculares com necrose pulpar. O autor utilizou uma amostra de 32 dentes traumatizados com necrose pulpar e coroas intactas de 27 pacientes. Dezenove dentes apresentavam lesões periapicais isoladas e visíveis radiograficamente, com diâmetros variando de 2 a 10mm. Foram isolados microrganismos de 18 dentes, porém de nenhum dente sem lesão periapical, dando um total de 88 cepas de microrganismos. Não houve correlação entre o tamanho da área radiolúcida periapical e o tempo após o acontecimento do trauma, porém o tamanho da lesão estava relacionado com o número de cepas encontradas, sendo que quanto maior a área, maior o número de cepas isoladas. Em vários casos, mais de uma cepa foi encontrada, e em um dente verificou-se a presença de 12 cepas. Nos dentes com inflamação periapical aguda observou-se um maior número de microrganismos do que nos dentes sem inflamação. Em sete pacientes que tiveram dor durante ou após o tratamento (*flare-ups*), os dentes possuíam seis ou mais cepas microbianas. Já nos casos assintomáticos foram isoladas menos de seis cepas dos dentes envolvidos. Na identificação das bactérias isoladas evidenciou entre elas: *Eubacterium alactolyticum*, *Propionibacterium acnes*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Campylobacter* sp., *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella parvula*, *Arachnia propionica*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Peptostreptococcus micros*. Observou-se uma correlação entre a incidência de agudecimentos e a presença de determinadas espécies de microrganismos. *Bacteróides melaninogenicus* foram encontrados em todos os casos de agudecimento, porém em mais nenhum caso. O autor sugeriu em suas conclusões, que a inflamação aguda ocorreu por combinações específicas de cepas bacterianas e que a presença do *Bacteroides melaninogenicus*, entre elas, foi essencial para a sua instalação.

CARLSSON; FRÖLANDER; SUNDQVIST¹², em 1977, compararam a tolerância ao oxigênio de vários microrganismos anaeróbios isolados de canais radiculares infectados. As cepas bacterianas cresceram em ágar BHI acrescido de 4% de sangue, durante três dias, a 37°C, em câmara anaeróbia. A seguir foram replaqueadas e verificou-se que todas as cepas sobreviveram quando suas colônias permaneceram em aerobiose por até duas horas em ágar sangue. Os autores concluíram que o sangue apresenta um fator protetor para os anaeróbios, assim como a catalase, adicionada à superfície do ágar, que é capaz de reagir com o peróxido de hidrogênio, liberando oxigênio.

Em 1979, SUNDQVIST et al.⁷⁹, utilizaram combinações bacterianas isoladas de canais necrosados sintomáticos e assintomáticos e inocularam em tecido subcutâneo de cobaias. Após a implantação o tecido inflamatório-infeccioso foi transferido a outro animal e realizou-se a análise microscópica por meio de colorações de H/E e Brown e Brenn. Verificaram que somente as combinações de microrganismos isolados de dentes com sintomatologia desenvolveram infecções transmissíveis e que todas estas continham cepas de *Bacteróides*. Além disso, cepas de *Peptostreptococcus micros* ou *Streptococcus mitis* foram essenciais para desenvolver patogenicidade.

Estes resultados foram confirmados por GRIFFEE et al.²⁹, em 1980, fazendo colheitas microbiológicas de 33 dentes com polpas necróticas, com presença de cárie, e com ou sem lesões periapicais visíveis radiograficamente. Os autores concluíram que existe uma associação entre o *Bacteroides melaninogenicus* e a presença de dor, odor, fístula e inchaço, sintomas freqüentemente associados à necrose pulpar.

Em 1981, MÖLLER et al.⁴⁷ estudaram *in vivo* as reações dos tecidos periapicais de 78 dentes permanentes de nove macacos, que tiveram suas polpas assepticamente necrosadas. Vinte e seis dentes foram selados e permaneceram livres de microrganismos por sete meses e os 52 espécimes restantes foram mantidos expostos à microbiota indígena bucal por seis a sete

dias e posteriormente, ficaram selados até o final do experimento (sete meses). Por meio de exames clínicos, radiográfico, microscópico e microbiológico os autores observaram que os canais não infectados apresentaram-se estéreis até o final do experimento, detectando-se na maioria dos casos, ausência ou discreta inflamação dos tecidos periapicais. Os dentes que permaneceram expostos desenvolveram periodontites apicais e nos canais foram encontrados anaeróbios facultativos como: *Streptococcus* α - hemolíticos e *Enterococcus*; anaeróbios estritos: *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Peptococcus* e *Peptostreptococcus* além de bactérias da microbiota indígena bucal. Concluíram que o número de microrganismos com capacidade para sobreviver em canais fechados foi substancialmente reduzido durante o período experimental.

Algumas espécies de *Actinomyces* foram encontradas em estudo microbiológico *in vivo* realizado em 1981, por BORSSÉN; SUNDQVIST⁶. As amostras foram colhidas de canais radiculares, durante terapia endodôntica de rotina, utilizando cones de papel absorvente colocados em meio de transporte adequado e encaminhados para processamento microbiológico. Houve crescimento de microrganismos em 235 das 598 culturas examinadas e, em 10,6% delas foram encontradas *Actinomyces*. Estas espécies eram, geralmente, parte de infecções polimicrobianas e puderam ser eliminadas por meio de tratamento convencional. Em dois casos esta resposta foi negativa e, portanto fez-se necessária sua remoção cirúrgica.

BYSTRÖM et al¹⁰, em 1987, por meio de técnicas microbiológicas e microscopia óptica, analisaram a eficácia do tratamento endodôntico de 79 dentes humanos unirradiculares com polpa necrótica e lesões periapicais. O preparo biomecânico foi complementado com soluções químicas irrigadoras e o hidróxido de cálcio como curativo intracanal. A obturação dos canais foi realizada após os testes bacteriológicos apresentarem-se negativo, e a preservação dos casos durante um período de dois a cinco anos. Houve reparo em 67 lesões, porém em sete espécimes, a lesão regrediu, mas não totalmente

em dois anos e, em cinco casos ocorreu a persistência do processo infeccioso. Estes dentes foram submetidos à cirurgia apical e analisados microscopicamente. Foram identificadas espécies bacterianas como *Actinomyces israeli*, *Actinomyces naeslundii* e *Arachia propiônica*. Estes resultados corroboram os achados de BORSSÉN; SUNDQVIST⁶ e, sugerem que a persistência destas lesões periapicais após o tratamento endodôntico pode estar relacionada com a permanência de bactérias no canal dentinário, nos túbulos dentinários, no cimento celular, nas foraminas apicais e em raspas de dentina e/ou cimento contaminados, lançados na região periapical durante o preparo biomecânico.

A composição da microbiota de dentes humanos com lesão periapical, sua relação com as paredes dentinárias dos canais radiculares, os aspectos morfológicos da interação entre as diferentes espécies e a resposta inflamatória do hospedeiro no periápice também foram analisados microscopicamente por NAIR⁵⁰, em 1987. Trinta e um dentes com lesões periapicais foram extraídos e levados para análise em microscopia ótica comum e eletrônica. Em todos os casos o autor encontrou microbiota mista, basicamente de cocos, bacilos, filamentosos e espiroquetas, sendo que os bacilos geralmente eram gram negativos. Formações de agregados de bactérias sugeriam uma relação simbiótica. Por meio da microscopia eletrônica, constatou a presença de uma densa camada bacteriana nas paredes do canal e notou que, a flora endodôntica estava separada do resto da lesão por uma densa camada de neutrófilos ou por um tampão epitelial no forame apical. Essa barreira de neutrófilos poderia estar associada à resposta quimiotática às bactérias invasoras ou aos seus subprodutos, o que seria uma forte evidência contra vinda das bactérias para a região periapical por anacorese.

SUNDQVIST; JOHANSSON; SJGREN⁸⁰ (1989) avaliaram a presença de *Bacteroides* produtores de pigmento negro (BPPN) e sua correlação com formação de abscessos apicais em 72 dentes permanentes unirradiculares portadores de necrose pulpar e periodontite apical. Nos resultados obtidos por

meio de cultura em anaerobiose, verificou-se que 90% das bactérias isoladas eram anaeróbias e as espécies mais freqüentes foram: *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides intermedius*, *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Eubacterium lentum* e *Eubacterium alactolyticum*. BPPN estavam presentes em 30% dos canais, os quais apresentavam culturas mistas e, tanto a média do número de cepas bacterianas como o número total de colônias foi maior nos canais que os continham. Os BPPN com maior prevalência foram *B. intermedius* e *B. endodontalis*. Enfatizaram que os métodos de instrumentação dos canais radiculares influenciaram no desenvolvimento de abscessos quando da presença de BPPN, pois estes poderiam ser inadvertidamente lançados ao periápice durante a biomecânica.

Com os mesmos objetivos de identificar as bactérias da flora microbiana dos canais radiculares, em 1991, BAUMGARTNER; FALKLER⁵ utilizando os 5mm apicais de 10 dentes com cavidades de cárie e lesões periapicais, isolaram 50 cepas bacterianas, sendo que 68% eram de anaeróbios estritos, os quais, estavam presentes em todos os canais e 20% dos canais estavam infectados exclusivamente por estas bactérias, em decorrência de um processo seletivo e gradual que favoreceu os anaeróbios. Tais achados se devem pelo fato do suprimento sanguíneo comprometido, pelo baixo potencial de óxido-redução do tecido necrótico e pelo estabelecimento de relações sinérgicas entre as bactérias.

SUNDQVIST⁷⁸, em 1992, realizou um estudo bacteriológico empregando meios de cultura em condições aeróbias e anaeróbias para examinar a microbiota dos canais radiculares de 65 dentes permanentes unirradiculares humanos necrosados com paredes da câmara pulpar intacta e reabsorção óssea periapical. Bactérias estavam presentes em todos os canais radiculares com predomínio de anaeróbias em mais de 90% das amostras. Um total de 353 cepas bacterianas foram isoladas, com uma média final de 5,4 por canal. As espécies mais comumente encontradas foram *Fusobacterium nucleatum*,

Prevotella intermédia, *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Eubacterium alactolyticum*, *Eubacterium lentum* e *Wolinella recta*. Diferentes espécies bacterianas se associaram constituindo uma cadeia alimentar, na qual o metabolismo de algumas espécies proporcionaria nutrientes para o crescimento de outras. Os resultados confirmam a presença de uma microbiota característica nos canais radiculares. Durante a infecção, desenvolvem-se fortes interações entre as espécies, resultando em mudanças ambientais na microbiota endodôntica.

Em 1994, SUNDQVIST⁷⁷ fez uma revisão de literatura discutindo os principais aspectos relativos à taxonomia, ecologia e patogenicidade das bactérias encontradas no canal radicular. Enfatizou mais uma vez que todas as bactérias que habitam a cavidade bucal, teoricamente têm capacidade de invadir os canais radiculares durante e após a necrose pulpar, todavia, as encontradas em canais infectados correspondem a um grupo restrito de espécies se comparado com a microbiota total da cavidade bucal. O meio ambiente do canal radicular permite o crescimento de bactérias anaeróbias, capazes de fermentar aminoácidos e peptídeos; e de bactérias cuja fonte energética provém da fermentação de carboidratos quando restringidas pela carência de nutrientes. As associações existentes são provavelmente baseadas em demandas e relações nutricionais. Assim a patogenicidade da microbiota polimicrobiana do canal radicular está na dependência do sinergismo bacteriano. Ainda neste trabalho demonstrou, de forma atualizada, as espécies relevantes: *Fusobacterium nucleatum* (48%), *Streptococcus sp.* (40%), *Bacteroides sp.* (35%), *Peptostreptococcus micros* (34%), *Prevotella intermédia* (34%), *Peptostreptococcus anaerobius* (31%), *Eubacterium alactolyticum* (34%), *Eubacterium lentum* (31%) *Lactobacillus* (32%), *Porphyromonas endodontalis* (9%), *Actinomyces israelii* (11%). Bactérias aeróbias como *Pseudomonas aeruginosa*, raramente foram encontradas, a não ser que fossem levadas pela instrumentação. Os facultativos estiveram presentes em menores números e tendiam a desaparecer em relação aos anaeróbios estritos.

GOMES; LILLEY; DRUCKER²⁷ (1996) analisaram coletas microbiológicas de 70 canais radiculares para demonstrar as relações existentes entre as espécies bacterianas e a presença de sinais e sintomas clínicos. Observaram que 37 casos apresentaram dor espontânea, associados com as espécies de *Prevotella* spp. e *Peptostreptococcus* spp.; 49 com dor à percussão associada a *Prevotella* spp. ou anaeróbios; 23 apresentaram edema com *Eubacterium* spp., *Prevotella* spp. E *Peptostreptococcus micros*; 6 possuíam exudato purulento, associados com *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella loescheii*, *Streptococcus constelatus* e *Bacteroides* spp.; e 57 com canal drenando e predominância de anaeróbios facultativos.

SIREN et al.⁷¹ (1997) investigaram a relação entre os achados microbiológicos e os procedimentos clínicos. A amostra foi dividida em dois grupos: grupo das bactérias entéricas e o das não entéricas. *Enterococcus faecalis* foi o microrganismo mais freqüente no grupo das bactérias entéricas entre outras espécies como *Streptococcus ssp.*, *Fusobacterium nucleatum* e *Prevotella intermédia/nigrescens*, que também estavam presentes no grupo de bactérias não entéricas. O maior número de sessões e a falta de selamento adequado podem aumentar a probabilidade de encontrarmos as bactérias entéricas em infecções persistentes, indicando, portanto, que estes microrganismos penetram nos canais radiculares durante o tratamento endodôntico.

RIBEIRO⁶¹ (1997) por meio da análise de microscopia ótica de 32 raízes dentárias com lesões periapicais, firmemente aderidas a seus ápices, e de 16 lesões isoladas, verificou a alta freqüência de bactérias gram-positivas e gram-negativas no lume dos canais principais e das ramificações constituintes do delta apical e, também, em menor proporção, nos túbulos dentinários, nos cementoplastos, na superfície externa e nos granulomas. Concluiu, portanto, que nos casos de necrose pulpar e granulomas periapicais as bactérias poderiam envolver todo o sistema de canais radiculares. Enfatizou ainda a necessidade do auxílio de substâncias químicas no preparo biomecânico,

emprego de curativos entre as sessões, além do selamento adequado dos dentes em tratamento.

ABOU-RASS; BOGEN¹ (1998) investigaram microrganismos presentes em lesões periapicais (que não apresentavam comunicação com a cavidade bucal) estritamente selecionadas, em 13 dentes com lesões refratárias e calcificações pulpare. Amostras foram colhidas da loja cirúrgica e do corpo da lesão (ambas servindo de controle) e uma 3ª amostra foi colhida do ápice radicular. Em todos os casos, as amostras dos ápices continham microrganismos sendo 63,6% anaeróbios estritos e 36% facultativos. A inabilidade de erradicar todos os microrganismos do canal radicular durante o tratamento endodôntico, em conjunto com fatores anatômicos, pode permitir futuramente a colonização bacteriana do ápice radicular e tecidos periapicais circundantes e, conseqüentemente, impedir o reparo.

Um trabalho realizado por SIQUEIRA JR.⁶⁹ em 2002, ressaltou a importância do conhecimento das espécies de microrganismos que colonizam os canais radiculares a fim de que os tratamentos endodônticos possam ser realizados de forma adequada dando condições de reparação periapical. Afirmou que o estudo e a aplicação de novas tecnologias contribuem para o entendimento das infecções endodônticas. Sugeriu que os métodos moleculares confirmaram a presença de microrganismos já descritos por meio das culturas microbiológicas, porém algumas bactérias, têm sido detectadas apenas por meio de técnicas moleculares. Entre elas *Bacteroides forsythus* e *Treponema denticola*, reconhecidas como habitantes das patologias periodontais, além de outras espécies como a *Prevotella tannerae* e *Treponema maltophilum*.

ESTRELA (2004)²⁰ defendeu que mesmo com algumas dificuldades, o teste microbiológico, com base no cultivo de microrganismos provenientes dos canais radiculares, constitui-se num recurso laboratorial valioso, sendo pertinente no ensino, na pesquisa e como recurso auxiliar nos casos clínicos resistentes à terapêutica endodôntica convencional. Afirmou que este exame permite o estudo da etiopatogenia do processo infeccioso; suporta a avaliação da efetividade antimicrobiana das substâncias utilizadas no tratamento; e, por conseguinte, contribui para o aperfeiçoamento das técnicas endodônticas.

2.2 - SOLUÇÕES IRRIGADORAS UTILIZADAS NO CONTROLE DA INFECÇÃO EM ENDODONTIA

Um dos objetivos do tratamento endodôntico é evitar que o processo infeccioso localizado nos canais radiculares se espalhe para os tecidos periapicais. Toda a terapia deve ser executada em condições assépticas de maneira a se evitar também a introdução de contaminantes externos no sistema de canais radiculares.

Os mecanismos de defesa do hospedeiro nem sempre conseguem atingir os microrganismos que se estabelecem nos canais radiculares. Sendo assim, as infecções que acometem estas regiões devem ser tratadas por procedimentos mecânicos auxiliados por substâncias químicas irrigadoras antimicrobianas capazes de romper o equilíbrio do ecossistema microbiano e atuar no maior número de regiões do sistema de canais radiculares.

A fase de irrigação/aspiração durante o preparo biomecânico é considerada por LEONARDO; LEAL⁴⁴ (1991) uma das mais importantes do tratamento endodôntico. A irrigação exerce o papel fundamental na movimentação ou solubilização do tecido pulpar, remoção dos microrganismos, seus produtos e subprodutos, partículas teciduais ou estranhas ao canal e toxinas, permitindo a ação da medicação intracanal e conseqüentemente, promover o reparo^{15, 44}.

Existe uma grande preocupação com a limpeza e com o controle microbiano durante o tratamento dos canais radiculares infectados, o que valoriza a busca de agentes usados na irrigação e de alternativas medicamentosas que apresentem atividade antimicrobiana, aumentando ainda mais as possibilidades de obtenção de sucesso nos tratamentos endodônticos. As soluções irrigadoras devem exercer estas funções, por meio do somatório de suas propriedades químicas, físicas, biológicas e microbianas, aliadas a um custo acessível aos profissionais da área. Dentro deste contexto, várias

substâncias têm sido estudadas e preconizadas para utilização durante o tratamento endodôntico, entre elas, destacam-se o hipoclorito de sódio e a clorexidina, ambos encontrados nas mais diversas concentrações.

O hipoclorito de sódio vem sendo usado por mais de décadas como auxiliar químico na desinfecção dos canais radiculares. É uma solução fortemente alcalina, que possui um duplo modo de ação: habilidade de dissolução de tecido necrótico, atribuída a esta alta alcalinidade e propriedade germicida, relacionada com a formação do ácido hipocloroso pela liberação de cloro ativo. A ação antibacteriana deste ácido ocorre por oxidação de enzimas bacterianas que leva à desorganização de seu metabolismo. Seu uso na terapia endodôntica foi sugerido por WALKER⁸⁷ em 1936, e enfatizado pelos trabalhos de GROSSMAN; MEIMAN³¹, 1941. Estes autores preconizaram inicialmente o uso da soda clorada a 5% como o solvente mais eficiente, tendo a capacidade de dissolver o tecido pulpar num período de 20 minutos a 2 horas. Posteriormente, em 1943, GROSSMAN³⁰ afirmou que esta propriedade de solvência é resultante de sua combinação com o peróxido de hidrogênio, que apresenta efervescência, liberando oxigênio nascente.

STEWART⁷⁴ (1955) afirmava que o tratamento endodôntico poderia ser dividido em três fases: preparo químico-mecânico, controle microbiano e obturação do canal radicular. Ressaltou que todas as fases eram importantes para o reparo dos tecidos de suporte do dente, mas que destas, o preparo químico-mecânico seria provavelmente a mais importante já que, alargando o canal, ocorreria uma diminuição do número de microrganismos presentes, além de remover o *debris* nos quais eles poderiam crescer.

Em um estudo *in vitro*, ROLLA; LÖE; RINDOM-SCHIÖTT⁶³, em 1971, verificaram que a clorexidina foi capaz de ser adsorvida pela hidroxiapatita, pela superfície dentária e pelas mucosas salivares, sendo liberada lentamente e de acordo com a diminuição da concentração do ambiente. Os autores afirmaram que esta possível capacidade de formação de reservatórios de

clorexidina na superfície dentária, liberada lentamente, poderia prevenir a colonização bacteriana e o desenvolvimento da placa dental.

A partir da década de 70, o interesse pela toxicidade das soluções irrigadoras passou a merecer atenção dos pesquisadores. Em 1973, SPANGBERG et al.⁷³, num estudo clássico, definiram que a concentração de 0,5% do hipoclorito de sódio tem o mais baixo grau de toxicidade, porém reduzidas propriedades antibacterianas. Já a 5% apesar de eficiente agente antimicrobiano, apresentou a maior reação tóxica. Concluíram, também, que o requerido efeito antibacteriano começa a ocorrer a partir da concentração de 1%.

O efeito solvente do hipoclorito sobre tecido vivo e necrótico bovino foi testado por GORDON; DAMATO; CHRISTNER²⁸ (1981). Observaram que soluções a 1%, 3% e 5% utilizadas sobre tecido necrótico apresentaram efeitos similares: remoção de 90% do conteúdo necrótico após 5 minutos. Sobre tecido vivo a efetividade foi menor: a 1% dissolveu cerca de 37% do tecido pulpar e nas concentrações maiores a dissolução foi de 70%.

MOORER; WESSENLINK⁴⁸, em 1982, estudaram os fatores que poderiam influenciar nesta capacidade do hipoclorito de sódio em dissolver tecido orgânico. Constataram que esta propriedade está na dependência da quantidade de matéria orgânica e de solução; na frequência e intensidade do fluxo irrigante e na superfície de contato entre o tecido e a substância. Concluíram que o hipoclorito de sódio, nas várias concentrações, deve ser utilizado em abundância, para se obter o máximo efeito.

RINGEL et al.⁶² (1982) compararam por meio de estudo *in vivo* a eficácia do gluconato de clorexidina a 0,2% e hipoclorito de sódio a 2,5% em 60 dentes humanos com canais radiculares necrosados e lesão periapical visível radiograficamente. A colheita do material foi realizada com cones de papel absorvente, transferidos para caldo tioglicolato convencional e pré-reduzido e,

incubados em aerobiose e anaerobiose, respectivamente. Após a análise dos resultados verificaram que, nestas concentrações, o hipoclorito de sódio se mostrou significativamente mais eficiente do que o gluconato de clorexidina do ponto de vista antimicrobiano durante as irrigações nos tratamentos endodônticos de dentes com necrose pulpar.

DELANY et al.¹⁸ (1982), BYSTRÖM; SUNDQVIST¹¹ (1983), estudaram, respectivamente, os efeitos antimicrobianos da solução de clorexidina a 0,2% e do hipoclorito de sódio a 0,5%, ambos comparados com a solução fisiológica. Nos dois trabalhos os autores observaram que as duas soluções foram mais efetivas que a solução salina na redução dos microrganismos dos canais radiculares em questão.

INGLE; TAINTOR³⁶, em 1985, defenderam que as soluções irrigadoras devem, por meio de suas propriedades, promover a dissolução tecidual, ter ação antimicrobiana e auxiliar na lubrificação dos canais. Para tanto, devem eliminar rapidamente ou destruir a microflora, neutralizar as substâncias tóxicas presentes, ser efetiva na presença de sangue e exudato, bem tolerada pelos tecidos, ter boa capacidade de penetração, não manchar as estruturas dentárias, de fácil obtenção e custo acessível.

PASHLEY et al.⁵⁶ (1985) concluíram que apesar do hipoclorito de sódio a 5% ser clinicamente aceitável para o preparo biomecânico e muito efetivo como irrigante, deveria ser empregado de forma criteriosa tomando-se cautela para impedir a chegada dessa substância ao periápice, pois poderia causar severa reação inflamatória.

PÉCORA et al.⁵⁷ em 1987 estudaram o tempo de vida (*shelf life*) da solução de Dakin (hipoclorito de sódio a 0,5%) armazenada em vidro âmbar em várias condições de temperatura. Verificou-se que após quatro meses a solução perdia 80% de seu teor de cloro quando recebia luz solar, 60% à

temperatura ambiente e apenas 20% quando conservada a baixa temperatura e isenta de luz.

JENKINS; ADDY; WADE³⁹ em 1988, estudando o mecanismo de ação da clorexidina na inibição da placa bacteriana, observaram que ela possuía uma ação bactericida imediata durante o tempo de sua aplicação e, uma ação bacteriostática prolongada como resultado da sua adsorção na película que recobre a superfície de esmalte.

A tolerância tecidual à clorexidina foi avaliada por VAUGHAN; GARNIK⁸⁶, 1989, em pacientes submetidos a bochechos de solução alcoólica a 0,125% após cirurgia periodontal. Os autores verificaram que os pacientes apresentaram um reparo mais rápido com grau de inflamação significativamente menor utilizando, ainda, menor quantidade de analgésicos.

Em função do grande emprego do hipoclorito de sódio em diversas concentrações, em 1989, SIMÕES; SAMPAIO; DEBELIAN⁶⁸ investigaram o poder bactericida desta solução sobre as bactérias encontradas nos canais radiculares e a tolerância tecidual das suas formas de apresentação em tecido conjuntivo de camundongo. Concluíram que, nas concentrações estudadas foi bem tolerado pelos tecidos; todas as soluções mostraram poder bactericida e o hipoclorito de sódio a 1% mostrou-se mais efetivo do que as diversas marcas comerciais do líquido de Dakin.

Independente da técnica utilizada deve ser dada atenção para o uso seguro e apropriado das substâncias químicas. REEH; MESSER⁶⁰, em 1989, descreveram um caso clínico em que, durante o retratamento de um incisivo central superior, ocorreu uma perfuração no terço médio da raiz e o hipoclorito de sódio foi injetado através desta perfuração. O paciente relatou uma dor severa na região e observou-se o aparecimento de tumefação e subsequente desenvolvimento de fístula e, a longo prazo a ocorrência de parestesia do assoalho e asa do nariz e da região infraorbital.

Em 1990, INGRAM³⁷ relatou um incidente envolvendo o hipoclorito de sódio a 5,25% que atingiu acidentalmente os olhos de um paciente. Imediatamente foi realizada a irrigação da área com água tépida por 10 minutos e encaminhamento para avaliação do oftalmologista. Observou-se um funcionamento normal da musculatura ocular, perda de células epiteliais da camada externa da córnea e edema da conjuntiva. Após o uso de solução oftálmica a base de antibiótico e esteróide o paciente estava assintomático e com aspecto clínico de reparo total.

HARRISON; WAGNER; HENRY³² (1990) compararam as propriedades antimicrobianas de duas composições de hipoclorito de sódio. Pontas de papel absorvente foram contaminadas com *E. Faecalis* e *C. Albicans*, e expostas às concentrações de 5,25% e 2,62% por períodos variando de 15 a 120 segundos. Após 45 segundos de exposição do hipoclorito a 5,25% e, 60 segundos a 2,62%, não houve crescimento de *E. Faecalis*. A *C. Albicans* foi eliminada após 15 segundos de exposição a ambas soluções testadas. Concluíram que as duas concentrações mostraram-se igualmente efetivas contra estes microrganismos.

CERVONE; TRONSTAD; HAMMOND¹³ (1990) se propuseram a avaliar *in vitro*, o efeito antimicrobiano da clorexidina (oito concentrações) por meio de um sistema de liberação controlada da substância. Os adesivos contendo a clorexidina foram depositados em placas de ágar sangue semeadas com diversos microrganismos e incubadas em aerobiose e anaerobiose. Diferentes halos de inibição foram observados em todos os adesivos de todas as placas, mostrando inibição de crescimento de todas as bactérias testadas.

Em 1990, por meio de estudo *in vitro*, ORSTAVIK; HAAPASALO⁵⁵ compararam o poder de desinfecção de soluções irrigadoras e curativos intracanal utilizando túbulos de dentina bovina contaminados com *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. As soluções testadas foram Hibitane (gluconato de clorexidina a

0,2%), hipoclorito de sódio a 5,25%, solução iodo iodeto de potássio (PVPI) e o EDTA a 17% e, os curativos, Calapset (solução saturada de hidróxido de cálcio) e o Paramonoclorofenol canforado. A eficácia dos medicamentos variou de acordo com as espécies bacterianas e de acordo com o tempo que permaneceram em contato com as paredes de dentina. A solução PVPI mostrou-se mais efetiva do que as outras, porém o hipoclorito de sódio além de ter sido um bom antimicrobiano, também demonstrou a propriedade de dissolução de tecido. A clorexidina foi menos eficiente do que o hipoclorito e o EDTA apresentou pouco ou quase nenhum efeito antimicrobiano.

BRISEÑO et al.⁷ (1992) avaliaram *in vitro*, a eficácia de duas soluções irrigadoras em duas concentrações diferentes cada, utilizando duas técnicas de irrigação. Uma cultura mista de *Escherichia coli* e *Streptococcus mutans* foi inoculada em 75 canais radiculares de dentes humanos extraídos, mantida por 30 minutos para posterior irrigação com 5 mL de cada substância testada pelos seguintes métodos: solução salina, manualmente; hipoclorito de sódio a 1% manualmente e com ultra-som; hipoclorito de sódio a 2% manualmente e com ultra-som; solução comercial à base de clorexidina (Fokalhydran I e Fokalhydran II), ambas manualmente. Foram feitas avaliações por Microscopia Eletrônica de Varredura e contagem das UFC e constataram que as soluções de clorexidina foram menos eficazes que as de hipoclorito e, o hipoclorito de sódio a 1% utilizado com irrigação manual mostrou maior efetividade sobre ambas espécies bacterianas, enquanto que a 2% com ultra-som foi o método menos efetivo.

VAHDATY; PITT FORD; WILSON⁸⁵, em 1993, investigaram a eficácia do gluconato de clorexidina a 0,2% e a 2% e do hipoclorito de sódio a 0,2% e a 2% sobre o *Enterococcus faecalis* em túbulos dentinários de incisivos bovinos. Os espécimes foram preparados, esterilizados, colocados em meio de cultura, inoculado 0,1 mL da suspensão bacteriana e incubados por 6 dias a 37°C. Após este período os canais foram irrigados com 20mL de cada substância testada, secos e removeu-se dentina da superfície radicular utilizando brocas

de diâmetros crescentes (100, 100-300, 300-500 µm de profundidade). As raspas de dentina obtidas foram cultivadas para verificar a quantidade de bactérias remanescentes. Os resultados indicaram que tanto a clorexidina quanto o hipoclorito em concentrações iguais foram similares na redução dos microrganismos. Ocorreu diminuição significativa do número de bactérias nos primeiros 100 µm de profundidade, porém em acima de 50% das amostras houve manutenção da contaminação, evidenciando a importância do uso do curativo de demora entre as sessões.

O trabalho de OHARA; TORABINEJAD; KETTERING⁵¹ (1993) também foi desenvolvido com o objetivo de comparar a ação antimicrobiana de várias soluções irrigadoras (hipoclorito de sódio a 5,25%, peróxido de hidrogênio a 3%, EDTA a 17%, clorexidina a 2%, solução saturada de hidróxido de cálcio e solução salina) sobre seis espécies de bactérias anaeróbias. Os melhores resultados foram conseguidos com a clorexidina, seguida pelo peróxido de hidrogênio, hipoclorito de sódio e EDTA, enquanto que as soluções de hidróxido de cálcio e salina foram totalmente ineficazes.

JEANSONNE; WHITE³⁸, em 1994 analisaram a ação do hipoclorito a 5,25% e gluconato de clorexidina a 2%, em 62 dentes humanos com necrose pulpar recém extraídos. Após a abertura coronária, fez-se a primeira coleta do material contaminado do canal radicular seguida pela utilização das soluções em teste e a segunda coleta; a terceira coleta foi obtida após 24 horas de incubação em anaerobiose. Ambas soluções reduziram consideravelmente o número de UFC, sendo a clorexidina mais eficiente, porém sem diferença estatisticamente significativa. Os autores concluíram que se o efeito antimicrobiano fosse o único requisito importante para uma solução irrigadora, a clorexidina seria o irrigante de escolha. O fato de ter uma baixa toxicidade não seria suficiente para compensar sua incapacidade de dissolver tecido pulpar.

YESILSOY et al.⁹³ em 1995 testaram por meio de diluição em ágar as soluções de hipoclorito de sódio (0,5%, 2,5% e 5,25%), do Peridex® (gluconato de clorexidina a 0,12%) e do Therasol, sobre os microrganismos: *S. Mutans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *P. micros*. Após a mensuração dos halos de inibição verificaram que o comportamento antimicrobiano do hipoclorito de sódio a 5,25%, do Peridex® e do Therasol foi semelhante. Os efeitos tóxicos destas substâncias foram avaliados por meio de sua injeção em tecido subcutâneo de guinea pigs e observados após duas horas, dois dias e duas semanas. Concluíram que o Peridex® e o Therasol têm bom potencial para serem usados como irrigantes em Endodontia, pois se mostraram materiais pouco agressivos e com eficácia antimicrobiana.

SIDNEY; ESTRELA⁸¹, em 1996, determinaram qualitativamente a presença de bactérias anaeróbias em dentes com lesões periapicais em função do preparo do canal radicular e da substância química utilizada na irrigação (hipoclorito de sódio a 1% e solução fisiológica). Os autores observaram que o preparo feito com um irrigante não anti-séptico contribuiu para a redução do número de bactérias, mas não foi capaz de eliminá-las. Quando a solução de hipoclorito foi utilizada, ao término de quatro instrumentos apenas duas espécies bacterianas foram isoladas.

Com o objetivo de determinar, *in vitro*, se a clorexidina apresentava substantividade, WHITE; HAYS; JANER⁸⁹, em 1997, a utilizaram como solução irrigadora a 2% e a 0,12% durante a instrumentação de dentes humanos recém extraídos. Após o tempo máximo de observação de 72 horas, a clorexidina a 2% se apresentou efetiva e, a 0,12% o efeito residual foi detectado para os intervalos de seis e 12 horas apenas.

SILVA⁶⁷ (1999) em estudo *in vivo* determinou a ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 1% e da clorexidina a 2%, como irrigantes em dentes com canais radiculares infectados. As culturas microbianas foram avaliadas imediatamente após o uso das soluções e decorridos sete dias. Os resultados

mostraram que ambos possuíam potencial antimicrobiano, quando considerada sua ação imediata, entretanto a clorexidina foi mais eficiente na atividade residual de sete dias.

LEONARDO et al.⁴², em 1999, avaliaram, *in vivo*, a capacidade antimicrobiana e o efeito residual do gluconato de clorexidina a 2%. Em seus resultados comprovaram que a solução apresentou o efeito antimicrobiano quando usada como substância irrigadora e que possuía uma substantividade de 48 horas após a sua utilização.

Em 1999, D'ARCANGELO; VARVARA; DE FAZIO¹⁷, testaram o efeito de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e de clorexidina associada ao cetrímide em bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas, microaerófilas e anaeróbias estritas. Os resultados demonstraram que os irrigantes testados tiveram efeito bactericida sobre todas as espécies bacterianas mesmo após curtos períodos de contato (10 minutos).

FERRAZ et al.²¹, 2001 compararam *in vitro* o poder antimicrobiano do gluconato de clorexidina gel a 2%, gluconato de clorexidina líquido a 2%, e hipoclorito de sódio a 5,25%. Setenta dentes humanos extraídos foram esterilizados em frascos contendo BHI e posteriormente contaminados com *Enterococcus faecalis*. Todos os grupos foram instrumentados do mesmo modo utilizando as substâncias em teste. Após o preparo os canais foram neutralizados, secos e depois imersos em frascos com 5 mL de BHI e mantidos em estufa a 37°C por dois dias. 80% das amostras pertencentes ao grupo da clorexidina gel não apresentaram contaminação após o período experimental, já nos outros grupos (clorexidina líquida e hipoclorito), apenas 60% dos espécimes não permaneceram contaminadas.

TANOMARU FILHO; LEONARDO; SILVA⁸² (2002) se propuseram a avaliar o reparo apical e periapical após o tratamento endodôntico de dentes de cães com necrose pulpar e lesão periapical crônica. 72 canais foram instrumentados e irrigados utilizando as soluções de hipoclorito de sódio a 5,25% ou clorexidina a 2%. Algumas raízes foram obturadas imediatamente com Sealapex® e guta-percha e, outras receberam curativo de hidróxido de cálcio por 15 dias e posterior obturação. Após 210 dias os animais foram mortos para realização das análises microscópicas dos espécimes. O reparo histológico foi melhor nos dentes que permaneceram com curativo de demora do que naqueles obturados imediatamente após o preparo. Já em uma comparação entre as soluções testadas, a clorexidina se comportou de maneira superior ao hipoclorito de sódio.

Em 2003, ÖNÇAG et al.⁵³ verificaram as propriedades antimicrobianas e a toxicidade do hipoclorito de sódio a 5,25%, da clorexidina a 2% e da clorexidina a 0,2% mais cetrimide a 0,2% (Cetrexidin®). Após análises *in vitro* e *in vivo* os autores concluíram que a irrigação com as substâncias á base de clorexidina foram mais efetivas sobre o *Enterococcus faecalis* e bactérias anaeróbias do que o hipoclorito de sódio, além de possuírem maior poder residual e menor efeito tóxico.

SASSONE et al.⁶⁵ (2003) avaliaram *in vitro*, a atividade antimicrobiana das soluções de clorexidina a 0,12%, 0,5% e 1% e do hipoclorito de sódio a 1% e 5% na presença ou não de carga orgânica (albumina sérica bovina – BSA). Os testes por contato demonstraram que a clorexidina a 0,12% não foi capaz de eliminar o *Enterococcus faecalis* em nenhum dos tempos testados independente da adição de BSA. A clorexidina a 1% eliminou todos os microrganismos independente do tempo e da adição de BSA, assim como ambas concentrações do hipoclorito de sódio. No teste por difusão em ágar, todas as concentrações de clorexidina foram superiores ao hipoclorito, que não apresentou atividade antimicrobiana quando o BSA foi adicionado independente da cepa testada. Com estes resultados, concluíram que para

uma eliminação microbiana eficiente seria necessária uma solução de clorexidina de concentração superior a 0,12% e que a adição de carga orgânica influenciou na atividade antimicrobiana das soluções testadas.

ERCAN et al.¹⁹, em 2004, analisaram *in vivo* a atividade antibacteriana do hipoclorito de sódio a 5,25% e do gluconato de clorexidina a 2% em 30 dentes com polpa necrosada. Foi realizada uma colheita do interior do canal radicular antes da instrumentação e uma imediatamente após a utilização das substâncias, a terceira colheita foi feita após 48 horas e, durante este período os dentes permaneceram vazios e selados com cimento de óxido de zinco e eugenol. As colheitas das amostras foram efetuadas com pontas de papel absorvente, armazenadas em tubos contendo meio de transporte e enviadas para processamento microbiológico. Os resultados demonstraram que ambos materiais possuíram excelente efeito bactericida, porém a clorexidina mostrou ser mais efetiva do que o hipoclorito.

YAMASHITA⁹² (2004) realizou um estudo em cães, para avaliar a microbiota presente no sistema de canais radiculares antes e após o preparo biomecânico; e as condições histopatológicas da reparação apical em dentes com lesão periapical crônica. As soluções testadas foram o hipoclorito de sódio a 2,5%, a clorexidina a 2% e o soro fisiológico e um grupo controle sem preparo biomecânico. As culturas microbiológicas foram realizadas antes e após 30 dias. O estudo microbiológico demonstrou que houve redução dos microrganismos nos grupos que utilizaram soluções antimicrobianas, com melhor resultado para a solução de clorexidina. No estudo histopatológico, foi observado, de um modo geral, infiltrado inflamatório periapical severo e em grande extensão, severo espessamento do ligamento periodontal e grandes áreas de reabsorção óssea e apical em todos os grupos. Concluiu-se que o emprego de substâncias antimicrobianas durante o preparo promoveu redução da microbiota endodôntica, sem a sua eliminação do sistema de canais radiculares de dentes de cães com lesão periapical, evidenciando que, apenas

o preparo biomecânico não foi capaz de criar condições para o reparo dos tecidos apicais e periapicais.

ABDULLAH et al.², em 2005, investigaram e compararam a eficácia bactericida frente ao *Enterococcus faecalis* obtido isoladamente, formando biofilme ou em suspensão, de cinco soluções utilizadas na irrigação de canais radiculares: solução de hidróxido de cálcio, hipoclorito de sódio a 3%, povidine iodine a 10%, gluconato de clorexidina a 0,2% e EDTA a 17%. Os períodos de contato das substâncias com a bactéria foram de 1, 2, 4, 8, 15 e 60 minutos. Após a análise dos resultados, verificaram que houve diferença estatisticamente significativa entre as soluções, que variou em função da forma de apresentação bacteriana, do tipo de agente e dos tempos de contato, exceto para os grupos do hipoclorito e do hidróxido de cálcio que se comportaram de forma semelhante entre si. O hipoclorito de sódio foi o agente mais efetivo eliminando 100% das cepas de *E. faecalis* após dois minutos de contato.

Frente à retrospectiva da literatura, observa-se uma grande preocupação com a limpeza e com o controle microbiano durante o tratamento dos canais radiculares infectados, o que valoriza a busca de alternativas medicamentosas que possuam eficiência antimicrobiana, aliada às propriedades biológicas consideradas ideais para a irrigação dos canais radiculares, aumentando ainda mais as possibilidades de obtenção de sucesso nos tratamentos endodônticos.

Esta procura por novos produtos, principalmente de origem animal, vegetal ou mineral tem sido atualmente enfocada em todas as áreas de pesquisa e recomendada pela Organização Mundial da Saúde. Uma destas substâncias é um polímero derivado do óleo de mamona (*Ricinus communis*) de autoria do professor Gilberto Orivaldo Chierice, do Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo-USP. Seu invento recebeu aprovação da Food and Drug Administration (FDA), responsável pela liberação de novos medicamentos e alimentos, abrindo as portas para inúmeras

pesquisas utilizando todos os derivados passíveis de serem produzidos com esta matéria-prima.

Na área médica vem sendo largamente estudado e empregado devido a sua biocompatibilidade com os tecidos vivos, nos casos de necessidades de colocação de próteses em pacientes vítimas de acidentes e tumores. O potencial bactericida e fungicida do biomaterial incentivou a realização de novas pesquisas em outras áreas, criando mais dois produtos indicados para o uso odontológico: o Endoquil, usado como solução irrigadora em Endodontia e o Perioquil, aplicado na Periodontia.

Em 1995, IGNÁCIO³⁵, utilizando um cimento derivado do polímero da mamona no preenchimento de falha óssea produzida em antebraços de coelhos, verificou por meio de análise radiográfica, macroscópica e histológica que este polímero se comportou como um osteocondutor, sem reação tóxica aos tecidos adjacentes e sem atividade fagocitária.

ARAÚJO; TEÓFILO; BRENTGANI⁴, em 1996, avaliaram o processo de cicatrização alveolar de dentes de ratos extraídos após o implante de resina natural derivada do óleo de mamona (*Ricinus communis*). Os resultados obtidos mostraram uma progressiva neoformação óssea, paralela a um decréscimo de volume de tecido conjuntivo e cápsula fibrosa ao redor do implante.

SUGUIMOTO⁷⁵, em 1997, avaliou microscopicamente, em macacos, a reação do tecido ósseo, na presença do implante de polímero de mamona. Foram empregados oito macacos, que receberam, sobre o mento, implantes pré-confeccionados, autoclavados e fixados com parafusos de titânio. Quatro implantes apresentaram somente uma perfuração central, utilizada para fixação e os outros quatro, aproximadamente 12 perfurações, além da central. Após o período de cinco meses, os animais foram mortos e os espécimes processados e corados em hematoxilina-eosina. A análise microscópica mostrou que o

polímero de mamona foi biocompatível, porém não induziu neoformação óssea nas áreas marginais e no interior dos implantes.

LAMANO CARVALHO et al.⁴¹, em 1997, testaram a biocompatibilidade do polímero da mamona no interior do alvéolo dental de ratos. O exame microscópico revelou grânulos do polímero localizados no terço cervical, circundados por delgada cápsula conjuntiva sem reação de corpo estranho. A análise histométrica evidenciou o adelgaçamento da cápsula conjuntiva e o aumento da neoformação óssea. Ao final de seis semanas as áreas-teste apresentavam-se quase que totalmente preenchidas por tecido ósseo maduro e, apesar da presença de uma cápsula bastante delgada, o trabeculado ósseo estabelecia, em vários locais, íntimo contato com o material implantado. Concluíram que o material testado foi biocompatível, sendo progressivamente osseointegrado no decorrer do reparo.

Tendo em vista as excelentes propriedades biológicas do polímero da mamona, FERREIRA et al.²³, em 1999, utilizaram pela primeira vez o detergente de mamona na Endodontia, para a verificação de sua atividade antimicrobiana. Num estudo *in vivo*, os autores compararam a atividade antimicrobiana do gel de Papaína a 0,4%, detergente derivado do óleo de mamona a 10% e hipoclorito de sódio a 0,5%, em dentes com necrose pulpar e lesão periapical visível radiograficamente. Em seus resultados encontraram ação antimicrobiana nas três soluções testadas. O gel de papaína a 0,4% apresentou o menor efeito, enquanto que o detergente de mamona a 10% e o hipoclorito a 0,5% mostraram-se com ações antimicrobianas semelhantes.

Ainda neste ano, FERREIRA²² realizou um trabalho com o objetivo de padronizar o teste de diluição em caldo para determinação da susceptibilidade de anaeróbios estritos frente a agentes irrigadores tradicionais e emergentes, empregados no tratamento endodôntico. Utilizou-se o detergente derivado do óleo de mamona a 10%, o digluconato de clorexidina a 2%, paramonoclorofenol canforado a 35% e solução de hidróxido de cálcio a 10%

sobre cepas de referência de *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* e *Clostridium perfringens*. O autor concluiu que por meio da padronização do método da macrodiluição em caldo a clorexidina foi a droga que demonstrou melhor eficiência, com as menores concentrações inibitórias mínimas, seguida pelo detergente de mamona, paramonoclorofenol canforado e hidróxido de cálcio. A eficácia de cada droga variou para as diferentes bactérias. O *Clostridium perfringens* exibiu maior resistência que a *Prevotella intermedia* e o *Fusobacterium nucleatum*, cujas concentrações bactericidas mínimas, foram em geral semelhantes para as diferentes drogas.

GARCIA JR.²⁶ (2000) estudou comparativamente a reparação óssea em defeitos cirúrgicos realizados na parede anterior do seio maxilar após a osteotomia e a colocação de implantes de polietileno poroso de alta densidade – Medpor; de poliuretana de mamona; e de matriz óssea desmineralizada bovina. As análises foram feitas após 145 dias de implantação por meio de avaliações histológicas e histométricas utilizando método de microscopia óptica computadorizada. O melhor comportamento foi observado no grupo da matriz óssea bovina, seguido do Medpor e da poliuretana de mamona, a qual respondeu com intensa fibrose e moderado infiltrado inflamatório crônico tardio.

LEONARDO et al.⁴³ (2001) analisando, *in vitro*, o poder antimicrobiano do detergente de mamona (Endoquill), da clorexidina a 2% e do hipoclorito a 0,5%, frente às bactérias Gram positivas (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*), Gram negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e ao fungo *Candida albicans*. O inóculo dos microrganismos foi obtido em caldo de BHI ou caldo de Muller Hinton incubados a 37°C por dois dias. Sobre as placas de Petri com meio de cultura e microrganismos, foram colocados discos de papel embebidos com as substâncias a serem testadas e, incubadas a 37°C por 24 horas. O poder antimicrobiano das soluções irrigadoras foi avaliado pela presença e tamanho dos halos de inibição ao redor dos discos de papel. Concluíram que todas as

espécies bacterianas testadas foram inibidas pela clorexidina a 2%, enquanto que o Endoquil só se mostrou efetivo contra os microrganismos Gram positivos, e o hipoclorito de sódio a 0,5% sobre o *Staphylococcus aureus*.

Em 2001, TEIXEIRA et al.⁸⁴ estudaram a capacidade de remoção de *smear layer* dos canais radiculares empregando diferentes tipos de irrigantes endodônticos. Foram utilizados 20 dentes, distribuídos entre quatro grupos: EDTA a 17%, hipoclorito de sódio a 5,25%, Endoquil, tendo a água destilada como grupo controle. Os dentes foram instrumentados e irrigados com as soluções em teste, clivados no sentido do seu longo eixo e preparados para a avaliação da microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que os grupos do Endoquil e do EDTA promoveram maior capacidade de remoção da *smear layer*, não diferindo estatisticamente entre si.

YAMASHITA et al.⁹¹ em 2004, avaliaram por meio da microscopia eletrônica de varredura, a característica da superfície dentinária após o preparo biomecânico utilizando diferentes regimes de irrigação. Trinta e seis dentes uniradiculados foram divididos em seis grupos experimentais: G1 – hipoclorito de sódio a 2,5%; G2 - hipoclorito de sódio a 2,5% + EDTA; G3 – clorexidina a 2%; G4 - clorexidina a 2% + EDTA; G5 – detergente de mamona; G6 - detergente de mamona + EDTA. Os resultados foram submetidos aos testes estatísticos e concluíram que: 1. as superfícies das paredes dos canais apresentaram menos resíduos quando se realizou o toailete final com EDTA; 2. os três irrigantes testados se comportaram de forma semelhante; 3. os melhores resultados foram observados no terço médio; 4. o detergente de mamona pode ser sugerido para novos estudos como irrigante endodôntico.

3- PROPOSIÇÃO

3 - PROPOSIÇÃO

Considerando a ação antimicrobiana e a toxicidade relativamente baixa do hipoclorito de sódio a 1%, do digluconato de clorexidina a 2% e do detergente derivado do óleo de mamona a 10% na irrigação de canais radiculares com necrose pulpar e lesão periapical, este estudo *in vivo* objetivou:

- 3.1 - analisar a atuação de cada uma delas, por meio da contagem das unidades formadoras de colônia (ufc), antes, imediatamente após o preparo biomecânico e após o período de 72 horas sem o curativo de demora intracanal;
- 3.2 - verificar as possíveis diferenças de comportamento da proliferação dos microrganismos existentes nos canais radiculares após a utilização das três soluções em teste.

4- MATERIAL E MÉTODOS

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - PROCEDIMENTOS CLÍNICOS

Após a aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em pesquisa envolvendo seres humanos da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP (Processo nº 116/2003), foram selecionados 14 pacientes de ambos os gêneros, na faixa etária de 15 a 61 anos, provenientes do serviço de triagem da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, com boa saúde geral e que não tinham sido submetidos a antibioticoterapia há pelo menos 3 meses.

Foram escolhidos 18 canais radiculares de dentes anteriores superiores, diagnosticados com necrose pulpar e que, ao exame radiográfico periapical, apresentavam área radiolúcida definida na região periapical, sugestiva de lesão nesta região. Os dentes, independente da presença e extensão de tecido cariado, deveriam apresentar estrutura coronária que possibilitasse o isolamento do campo operatório e posterior restauração provisória, além da ausência de bolsa periodontal e de intervenções endodônticas prévias. Os 18 dentes selecionados foram então divididos em três grupos, de 6 canais radiculares cada, sendo cada grupo submetido a uma das soluções irrigadoras estudadas.

Para a realização do exame radiográfico foram utilizados filmes periapicais Ultraspeed (Eastman Kodak Comp. – Rochester, NY-USA), aparelho de RX (Dabi Atlante), com 70 kVp e 10 mA e tempo de exposição de 0,6 segundos. A técnica empregada foi a do Paralelismo, com a utilização de posicionadores específicos para a região anterior (JON - São Paulo, Brasil).

Após a antissepsia da cavidade bucal com 5,0 mL de solução de digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard, Colgate-Palmolive Ind. Brasileira, Osasco, SP), usada sob a forma de bochecho, por 1 minuto, o

elemento a ser tratado recebeu profilaxia com pedra pomes (Inodon – Ind. Brasileira), sendo a seguir realizado o isolamento do campo operatório com lençol de borracha e grampos previamente esterilizados, vedamento da interface coroa/lençol com cianocrilato (Super Bonder, Loctite, SP) para evitar a infiltração de saliva e seguido pela antissepsia do mesmo com peróxido de hidrogênio a 30% (v/v), hipoclorito de sódio a 2,5% e posterior neutralização com tiosulfato de sódio a 5,0%^{24,64,70}. Todas as soluções foram preparadas em farmácia de manipulação (Farmácia Específica, Bauru, SP) antecedendo ao dia do atendimento do paciente, sendo sempre feitas novas formulações para cada caso, na semana em que seriam usadas.

Toda restauração ou tecido cariado presentes foram removidos com brocas esféricas para alta rotação, refrigeradas a ar e água, sendo o campo operatório submetido à nova antissepsia conforme descrito anteriormente. Para o acesso à câmara pulpar utilizou-se pontas diamantadas esféricas (KG Sorensen – Indústria e Comércio – São Paulo, SP), e brocas Endo Z (Maillefer, Suíça) para a remoção do teto, sendo o desgaste compensatório feito com pontas diamantadas tronco-cônicas de ponta inativa de número 3082 (KG Sorensen – Indústria e Comércio – São Paulo, SP), em alta rotação, sob abundante refrigeração com ar e água. Após a abertura coronária, o campo operatório e a câmara pulpar eram descontaminados novamente, conforme previamente descrito.

Foi realizada a primeira colheita do canal radicular **(1ª amostra microbiológica - Tempo 1)**, introduzindo-se seqüencialmente de 3 a 4 cones de papel absorvente⁵⁸ (ENDOPOINTS Indústria e Comércio Ltda. – Paraíba do Sul, RJ), esterilizados por raios gama, de números compatíveis com o diâmetro do canal radicular, na extensão do comprimento de trabalho provisório, determinado na radiografia de diagnóstico. Nos casos em que o canal apresentava-se seco, uma pequena quantidade de solução fisiológica estéril foi introduzida no canal para assegurar uma cultura viável.

Estes cones foram mantidos no interior do canal por aproximadamente 60 segundos a fim de permitir que o líquido contaminado contido no mesmo pudesse ser absorvido pelas fibras de papel, quando assepticamente foram transferidos para um criotubo (Alfa - São Paulo) contendo aproximadamente 40 pérolas de vidro (0,70 g) e 1,5 mL de Tampão Fosfato Sorensen (PBS), preparado segundo SORBER; HARTE⁷² (1968), previamente esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos.

Nesta mesma sessão, iniciou-se o preparo biomecânico coadjuvado com a irrigação e aspiração do conteúdo necrótico do interior do canal radicular utilizando-se, para cada grupo, uma das soluções a serem testadas:

- **Grupo 1 - solução de hipoclorito de sódio a 1,0%**, preparada pela Farmácia Específica de Bauru;
- **Grupo 2 - solução de digluconato de clorexidina a 2,0%** , preparada pela Farmácia Específica de Bauru;
- **Grupo 3 - Endoquil, detergente derivado do óleo de mamona a 10,0%**, produzido pelo Instituto de Química de São Carlos.

Todas as substâncias foram acondicionadas em tubetes anestésicos de vidro previamente esterilizados, e mantidos em recipiente fechado ao abrigo da luz, à temperatura de 4° C, de acordo com FERREIRA et al.²³ (1999). A solução era introduzida no canal radicular por meio de seringa carpule provida de agulha gengival tipo 30G descartável e esterilizada (GN Injecta Indústria e Comércio - Diadema , SP) ao iniciar a instrumentação. A neutralização do conteúdo séptico/tóxico do canal foi efetuada por meio da “Técnica progressiva coroa-ápice sem pressão apical” , até atingir uma distância de 2 a 3 mm aquém do ápice, baseada na radiografia de diagnóstico. Com uma lima tipo K (Maillefer, Suíça) em posição, nova radiografia foi realizada para a determinação do comprimento real de trabalho (CRT) que, deveria situar-se a 1,0 mm aquém do ápice radiográfico. Após o estabelecimento do CTR, iniciou-se a execução do batente apical de acordo com a “Técnica escalonada regressiva anatômica”. Com limas tipo K estabeleceu-se o diâmetro anatômico

(DA) de cada canal e seguiu-se a instrumentação utilizando três a quatro limas de números superiores para se definir o instrumento de memória (IM). Obtido o batente apical, sempre com o canal inundado pela substância irrigadora, instrumentos de maior calibre foram introduzidos sucessivamente, promovendo o preparo escalonado, utilizando quatro instrumentos subseqüentes ao IM, além das brocas Gates-Glidden (Maillefer, Suíça), compatíveis com os terços cervical e médio do canal radicular. Aproximadamente volumes de 1,8 mL das soluções a serem avaliadas foram empregados na irrigação e aspiração do canal (quantidade aproximada do volume total de um tubete) a cada troca de instrumento. As limas foram substituídas após o preparo biomecânico de quatro canais radiculares²³.

Ao final da instrumentação, fez-se necessário o uso de **substâncias neutralizadoras** dos agentes antimicrobianos em estudo, minimizando-se, assim, a interferência pós-tratamento destas substâncias químicas que, se carregadas para o meio de cultura, poderiam provocar um falso resultado negativo. Segundo ESTRELA²⁰ para os hipocloritos e a clorexidina os agentes neutralizadores são, respectivamente, o tiosulfato de sódio a 1% e a lecitina de soja a 0,5% acrescida do *Tween* 80 a 1,0% (Farmácia Específica – Bauru, SP). Para o detergente derivado do óleo de mamona foi recomendada a lavagem do canal com soro fisiológico, conforme comunicação pessoal do Professor Doutor Gilberto Chierice, do Instituto de Química da Universidade de São Carlos – USP.

Foi realizada então a segunda colheita da amostra (**2ª amostra microbiológica - Tempo 2**) do interior do canal, para avaliar a imediata ação das substâncias antimicrobianas utilizadas, seguindo a mesma conduta previamente descrita para a primeira colheita. Após este procedimento, o canal radicular foi seco por meio de aspiração, complementada com a inserção cones de papel absorvente esterilizados e a seguir mantido vazio. Colocou-se uma bolinha de algodão estéril na embocadura do canal, sendo o selamento da abertura coronária feito com obturador provisório Dentalville® (Dentalville do

Brasil – Joinville, SC.), seguindo as recomendações de OLIVEIRA; PÉCORA; FRAGA⁵².

Os criotubos contendo os cones de papel usados para coletar as amostras do canal antes e após a realização do preparo biomecânico foram encaminhados ao laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP para processamento microbiológico.

Decorridas 72 horas, realizou-se novamente as etapas de antissepsia da cavidade bucal, isolamento absoluto, antissepsia do campo operatório, remoção do selamento e da bolinha de algodão, e a última colheita (**3ª amostra microbiológica - Tempo 3**) do canal radicular, seguindo o mesmo protocolo já descrito. A seguir, os canais foram irrigados com 1,8 mL de soro fisiológico esterilizado, aspirados e secos, seguidos pela aplicação de solução de ácido etilenodiaminotetracético 14,3% (EDTA Odahcan Herpo Produtos Dentários Ltda., RJ), em quantidade suficiente para preencher o canal radicular. Decorridos 3 minutos, os canais foram novamente irrigados com 1,8 mL de soro fisiológico esterilizado, aspirados, secos e preenchidos com curativo de demora à base de hidróxido de cálcio e propilenoglicol para serem obturados posteriormente.

4.1.1 - SEQUÊNCIA DOS PROCEDIMENTOS CLÍNICOS

FIGURA 1: exame radiográfico periapical ;
imagem sugestiva de lesão periapical.

FIGURA 2: posicionador e filme utilizados na
técnica do Paralelismo.

FIGURA 3: material para antissepsia da cavidade
bucal e profilaxia do dente a ser tratado.

FIGURA 4: material clínico.

FIGURA 5: isolamento absoluto, vedamento interface dente/lençol de borracha e antissepsia do campo operatório.

FIGURA 6: colheita do material.

FIGURA 8: irrigação + odontometria + instrumentação + restauração provisória.

4.2 - PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

4.2.1 - PREPARO DOS MEIOS DE CULTURA UTILIZADOS:

Os materiais descritos a seguir foram preparados no dia anterior do atendimento clínico de cada paciente, em quantidade suficiente para o mesmo.

4.2.1.1 - Tampão Fosfato Sorensen pH 7,0 (PBS)

Este tampão foi preparado segundo SORBER; HARTE⁷², sendo empregado para o transporte e a diluição das amostras obtidas dos canais radiculares, a fim de possibilitar a contagem das unidades formadoras de colônia (ufc) dos microorganismos detectados.

Composição:

- Fosfato de potássio monobásico P.A. (KH_2PO_4)...Reagen..... 4,0 g
- Fosfato de potássio dibásico P.A. (K_2HPO_2)....Reagen.....2,0 g
- Água destilada qsp.....1000,0 mL

Após a mistura e a homogeneização das substâncias, alíquotas de 1,5 e de 9,0 mL foram distribuídas em criotubos (de 2,0 mL) contendo aproximadamente 0,70 g pérolas de vidro e em tubos de vidro de 16x 160 mm os quais foram usados, respectivamente, para o transporte e a diluição das amostras, autoclavados a 121°C durante 15 minutos, e armazenados em estufa a 37°C até o momento de sua utilização.

4.2.1.2 - Tioglicolato de Sódio sem Indicador (Tio's)

Utilizou-se este meio enriquecedor para detectar a presença de quantidades mínimas de microrganismos (inferiores a 20 ufc/mL) provenientes das amostras obtidas nos três períodos estudados (1ª, 2ª e 3ª colheitas), além de ser usado para testar a esterilidade dos cones de papel, utilizados durante as colheitas, confirmando a ausência de contaminação prévia que pudesse interferir nos resultados.

Composição:

- Extrato de levedura.....5,0 g
- Casitone.....15,0 g
- Dextrose.....5,0 g
- Cistina-L.....0,25 g
- Tioglicolato de sódio.....0,5 g
- Ágar.....0,75 g
- Cloreto de sódio.....2,5 g

Foram misturadas 1,74 g do produto desidratado - *Thioglycollate Medium W/O indicator* (Difco), com 60,0 mL de água destilada. Após a homogeneização e fusão do ágar, distribuiu-se em tubos com tampa de rosca de 16,0x16,0 mm e de 13,0x10,0mm, em volumes de 15,0 mL e 4,0 mL, respectivamente, autoclavados a 120°C durante 20 minutos, e armazenados em estufa a 37°C até o momento de sua utilização.

4.2.1.3 - Tryptic Soy Agar (TSA)

O TSA, preparado segundo TCHAOU et al.⁸³, foi empregado para determinação de ufc de microrganismos aeróbios nutricionalmente exigentes e anaeróbios fastidiosos.

Composição:

- Triptona (digesto pancreático de caseína).....15,0 g
- Soytone (digesto enzimático de soja).....5,0 g
- Cloreto de sódio.....5,0 g
- Ágar.....15,0 g
-

Para o preparo deste meio, foram misturados 300,0 mL de água destilada a 13,5 g de *Tryptic Soy Agar Soybean-Casein Digest Agar, USP* (Difco). A esta mistura foram adicionados 0,5 mg/mL de hemina e, 0,5 mg/mL de vitamina K, que foi autoclavada a 120,0°C por 20 minutos. Após o resfriamento em banho-maria a uma temperatura de aproximadamente 50°C, foi acrescido, assepticamente, em Câmara de Fluxo Laminar, 5,0% de sangue

desfibrinado de carneiro. O meio foi distribuído, assepticamente, em volume aproximado de 5,0 mL em placas de Petri de 10x60 mm esterilizadas.

Após a geleificação do ágar, as placas foram acondicionadas em posição invertida em recipientes de plástico tipo Tupperware, mantidas em estufa a 37°C por 24 horas, que antecediam o momento de sua utilização.

4.2.2 - PROCESSAMENTO MICROBIOLÓGICO

No Fluxo Laminar (Veco Ind. Bras. - Campinas, SP) do laboratório da disciplina de Microbiologia do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP, foram realizadas todas as etapas do processamento microbiológico.

Os criotubos contendo as amostras das 1^a, 2^a e 3^a colheitas microbiológicas foram agitados por 1 minuto, em agitador Mixtron (Leucotron Equipamentos Ltda., MG), regulado em velocidade máxima (4), para favorecer a dessorção dos microrganismos presentes nos cones de papel. A seguir, com auxílio de pipeta de precisão P.1000 (Pipetman – Gilson, FR) e de ponteiros descartáveis e esterilizados (Eppendorf – Hamburg, GE) foi feita a diluição decimal seriada, transferindo-se 1,0 mL da solução do criotubo para um tubo de 15x180 mm com tampa de rosca, contendo 9,0 mL de PBS. Este tubo foi submetido à agitação por 30 segundos em velocidade máxima, conforme descrito anteriormente, repetindo essa conduta sucessivamente até a diluição 10⁻⁵.

Alíquotas de 50 µl dos criotubos e de cada diluição foram depositadas na superfície das placas de Petri de 15x60 mm contendo 5,0 mL do meio TSA com auxílio de uma pipeta centesimal 10/100 (Labpette – Labnet) e ponteiros descartáveis esterilizados. Este procedimento foi realizado em duplicidade, isto é, para cada cultura pura e cada uma das diluições semeou-se duas placas do meio, nas duas formas de incubação, totalizando 24 placas para cada colheita microbiológica. Essas alíquotas foram semeadas com auxílio de bastão de

vidro angulado, esterilizado, girando-se a placa e o bastão, de maneira a espalhar o material uniformemente por todo o meio de cultura, sempre no sentido amostra mais diluída para a menos diluída.

Para se obter as condições de anaerobiose, empregou-se o sistema GasPak (BBL™ GasPak Plus™, Benex Limited, Ireland) em jarras de anaerobiose de 3,5 litros (Permutation E.J.Krieger Indústria Brasileira, PR), seladas hermeticamente, sendo o período de incubação de 10 dias em estufa a 37°C. Condições de aerobiose foram conseguidas mediante a manutenção das placas em recipientes de plástico fechados (tipo Tupperware) por 48 horas em estufa a 37°C.

Uma alíquota de 50 µl das amostras não diluídas (cultura pura) foi transferida para tubos de 15x180 mm com tampa de rosca contendo 15,0 mL do meio Tio's para cada uma das colheitas, com o objetivo de detectar os microrganismos presentes em níveis menores ou iguais a 20 ufc/mL (limite de detecção da técnica).

Decorridos os períodos de incubação para as condições de aerobiose e de anaerobiose, procedia-se à contagem do número de unidades formadoras de colônias (ufc), com auxílio de Contador de Colônias CP 600 (Quimis – Aparelhos Científicos), sendo os valores anotados em fichas preparadas para este fim. Essas placas também foram fotografadas (Máquina Canon EOS Rebel Digital) para melhor visualização da morfologia colonial, a fim de que observações pudessem ser feitas entre as colônias detectadas nas três amostras obtidas dos canais radiculares de cada paciente avaliado.

4.2.3 - SEQUÊNCIA DOS PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

FIGURA 9: fluxo laminar; criotubo + pérolas de vidro + cones de papel; dessorção; pipeta e ponteira esterilizada.

FIGURA 10: diluição seriada.

FIGURA 11: deposição e semeadura nas placas; Tioglicolato de Sódio; incubação em aerobiose e anaerobiose.

FIGURA 12: colônias bacterianas; contador de colônias; crescimento bacteriano em Tioglicolato e esterilidade do cone de papel.

4.3 - ANÁLISE DOS RESULTADOS

Para facilitar as análises estatísticas, realizou-se a transformação dos valores das ufc em logaritmos decimais e conseqüente normalização dos dados viabilizando as comparações entre os grupos⁹².

4.3.1 - ANÁLISE ESTATÍSTICA*

Utilizou-se o “software” Sgma Stat for Windows (Stat. Soft. inc.) para a realização da análise, baseada nos seguintes critérios:

- a) **Estatística descritiva:** médias e desvios-padrão para todos os grupos;
- b) **Teste de Friedman:** teste não paramétrico para a comparação dos dados intragrupos;
- c) **Teste de Kruskal Wallis:** teste não paramétrico para a comparação de medidas independentes dos dados intergrupos;
- d) **Teste de Student Newman Keuls:** teste de comparação múltipla, utilizado para as comparações individuais, quando os testes anteriores demonstravam diferenças estatisticamente significantes.

* Orientação: Prof. Dr. José Roberto Pereira Lauris (Professor do Departamento de Odontologia Social da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP).

5- RESULTADOS

---

5 - RESULTADOS

5.1. - Estatística Descritiva

As tabelas 1, 2 e 3 ilustram os valores individuais, média e desvio padrão das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas aos três grupos analisados, nos três tempos de colheita.

As tabelas 4, 5 e 6 ilustram os valores individuais, média e desvio padrão dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, nos três grupos analisados, nos três tempos de colheita.

Na tabela 7 pode-se verificar os valores médios e desvios-padrão em logaritmo para as três substâncias testadas (soma geral), para cada colheita e método de incubação.

As figuras 13 a 24 demonstram o comportamento dos microrganismos (logaritmos), em ufc, relativos aos três grupos analisados, nos três tempos de colheita.

TABELA 1 – Contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 1
(Hipoclorito de sódio a 1,0%), nos três tempos de colheita.

	1ª colheita		2ª colheita		3ª colheita	
Paciente	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose
1	27.780.000	13.590.000	81.200	490	2.440.000	1.272.000
2	129.100	14.320	60	20	115.600	44.170
3	1.341.000	110	20	0	2.440.000	3.707.000
4	460	600	310	0	4.920.000	3.603.000
5	0	10	170	20	511.000	11.340
6	4.210	540	0	10	18.194.930	14.930
Média	4875795,00	2267596,67	13626,67	90,00	4770255,00	1442073,33
DP	11233014,77	5546825,00	33104,24	196,16	6795756,99	1781364,17

DP: desvio-padrão

TABELA 2 – Contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 2
(digluconato de clorexidina a 2,0%) nos três tempos de colheita.

	1ª colheita		2ª colheita		3ª colheita	
Paciente	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose
1	167.400	80	0	0	0	0
2	4.849	608.000	4.220	7.800	15.490	4.180
3	1.088.000	75.000	510	8.840	616.000	739.000
4	720	130	20	10	600	110
5	74.500	0	0	0	127.800	150.300
6	104.200	253.900	400	360	53.000	12.100
Média	239.944,83	156.185,00	858,33	2.835,00	135.481,67	150.948,33
DP	420.180,33	242.236,13	1.661,84	4.263,61	240.294,17	293.994,08

DP: desvio-padrão

TABELA 3 – Contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 3 (Endoquil, detergente derivado do óleo de mamona a 10,0%) nos três tempos de colheita.

Paciente	1ª colheita		2ª colheita		3ª colheita	
	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose
1	1.430	10	520	0	75.400	22.010
2	8.670	4.330	0	0	560.200	440.000
3	1.917.000	8.900	450	50	132.500	185.100
4	830	160	1.630	50	2.638.000	8.866.000
5	2.650	80	310	0	3.690	354.500
6	1.240	2.100	130	0	15.100	210.000
Média	321.970,00	2.596,67	506,67	16,67	570.815,00	1.679.601,67
DP	781.407,37	3.519,80	583,53	25,82	1.033.573,65	3.523.569,27

DP: desvio-padrão

TABELA 4 – Valores dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 1 (Hipoclorito de sódio a 1,0%), nos três tempos de colheita.

Paciente	1ª colheita		2ª colheita		3ª colheita	
	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose
1	7,44	7,13	4,91	2,69	6,39	6,10
2	5,11	4,16	1,78	1,30	5,06	4,65
3	6,13	2,04	1,30	0,00	6,39	6,57
4	2,66	2,78	2,49	0,00	6,69	6,56
5	0,00	1,00	2,23	1,30	5,71	4,05
6	3,62	2,73	0,00	1,00	7,26	4,17
Média	4,16	3,30	2,11	1,04	6,24	5,35
DP	2,66	2,13	1,62	1,00	0,76	1,18

DP: desvio-padrão

TABELA 5 – Valores dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 2 (Digluconato de Clorexidina a 2,0%), nos três tempos de colheita.

	1ª colheita		2ª colheita		3ª colheita	
Paciente	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose
1	5,22	1,90	0,00	0,00	0,00	0,00
2	3,69	5,78	3,63	3,89	4,19	3,62
3	6,04	4,88	2,71	3,95	5,79	5,87
4	2,86	2,11	1,30	1,00	2,78	2,04
5	4,87	0,00	0,00	0,00	5,11	5,18
6	5,02	5,40	2,60	2,56	4,72	4,08
Média	4,61	3,34	1,70	1,89	3,76	3,46
DP	1,14	2,33	1,51	1,82	2,10	2,15

DP: desvio-padrão

TABELA 6 – Valores dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 3 (Endoquil, detergente derivado do óleo de mamona a 10,0%), nos três tempos de colheita.

	1ª colheita		2ª colheita		3ª colheita	
Paciente	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose	Anaerobiose	Aerobiose
1	3,16	1,00	2,72	0,00	4,88	4,34
2	3,94	3,64	0,00	0,00	5,75	5,64
3	6,28	3,95	2,65	1,70	5,12	5,27
4	2,92	2,20	3,21	1,70	6,42	6,95
5	3,42	1,90	2,49	0,00	3,57	5,55
6	3,09	3,32	2,11	0,00	4,18	5,32
Média	3,80	2,66	2,19	0,56	4,98	5,51
DP	1,26	1,14	1,13	0,87	1,03	0,84

DP: desvio-padrão

TABELA 7 – Valores médios e desvios-padrão em logaritmo das ufc para cada colheita.

Colheita	Média	Desvio-padrão
Anaerobiose_1	4,19	1,74
Anaerobiose_2	2,00	1,37
Anaerobiose_3	5,00	1,69
Aerobiose_1	3,10	1,85
Aerobiose_2	1,17	1,34
Aerobiose_3	4,77	1,70

Log (ufc)

FIGURA 13 - Valores médios e desvios-padrão em logaritmo das ufc para cada colheita em Anaerobiose.

Log (ufc)

FIGURA 14 - Valores médios e desvios-padrão em logaritmo das ufc para cada colheita em Aerobiose.

FIGURA 15 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 1, em Anaerobiose.

FIGURA 16 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 1, em Aerobiose.

FIGURA 17 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 2, em Anaerobiose.

FIGURA 18 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 2, em Aerobiose.

FIGURA 19 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 3, em Anaerobiose.

FIGURA 20 - Representação gráfica dos logaritmos das contagens dos microrganismos, em ufc, relativas ao Grupo 3, em Aerobiose.

5.2. - Comparações Intragrupos

As comparações entre os três tempos de observação (três colheitas) estão ilustradas nas tabelas 8 a 18. Utilizou-se o Teste de Friedman com um nível de significância de 5% para a comparação geral. Quando a análise demonstrou diferença estatisticamente significativa, o teste de Student Newman Keuls foi aplicado para as comparações individuais.

TABELA 8 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Anaerobiose para o Grupo 1 (Hipoclorito de sódio a 1,0%).

Grupo 1	Média	DP
Anaerobiose 1	4,16	2,66
Anaerobiose 2	2,11	1,51
Anaerobiose 3	6,24	0,76

DP: desvio-padrão

$p = 0,029$ (estatisticamente significativa ao nível de 5%)

TABELA 9 - Comparações isoladas entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Student Newman Keuls, em Anaerobiose para o Grupo 1 (Hipoclorito de sódio a 1,0%).

Comparações	P
Ana_3 X Ana_2	$< 0,05$ *
Ana_3 X Ana_1	$> 0,05$ ^{ns}
Ana_1 X Ana_2	$< 0,05$ *

* - estatisticamente significativa ao nível de 5%

ns - estatisticamente não significativa

TABELA 10 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Aerobiose para o Grupo 1 (Hipoclorito de sódio a 1,0%).

Grupo 1	Média	DP
Aerobiose 1	3,30	2,13
Aerobiose 2	1,04	1,00
Aerobiose 3	5,35	1,18

DP: desvio-padrão

p= 0,012 (estatisticamente significativo ao nível de 5%)

TABELA 11 - Comparações isoladas entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Student Newman Keuls, em Aerobiose para o Grupo 1 (Hipoclorito de sódio a 1,0%).

Comparações	P
Aero_3 X Aero_2	< 0,05 *
Aero_3 X Aero_1	< 0,05 *
Aero_1 X Aero_2	< 0,05 *

* - estatisticamente significativo ao nível de 5%

TABELA 12 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Anaerobiose para o Grupo 2 (Digluconato de Clorexidina a 2,0%).

Grupo 2	Média	DP
Anaerobiose 1	4,61	1,14
Anaerobiose 2	1,70	1,51
Anaerobiose 3	3,76	2,10

DP: desvio-padrão

p= 0,012 (estatisticamente significativa ao nível de 5%)

TABELA 13 - Comparações isoladas entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Student Newman Keuls, em Anaerobiose para o Grupo 2 (Digluconato de Clorexidina a 2,0%).

Comparações	P
Ana_3 X Ana_2	< 0,05 *
Ana_3 X Ana_1	> 0,05 ^{ns}
Ana_1 X Ana_2	< 0,05 *

* - estatisticamente significativa ao nível de 5%

ns - estatisticamente não significativa

TABELA 14 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Aerobiose para o Grupo 2 (Digluconato de Clorexidina a 2,0%).

Grupo 2	Média	DP
Aerobiose 1	3,34	2,33
Aerobiose 2	1,89	1,82
Aerobiose 3	3,46	2,15

DP: desvio-padrão

p= 0,072 (estatisticamente não significante)

TABELA 15 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Anaerobiose para o Grupo 3 (Endoquil - Mamona).

Grupo 3	Média	DP
Anaerobiose 1	3,80	1,26
Anaerobiose 2	2,19	1,13
Anaerobiose 3	4,98	1,03

DP: desvio-padrão

p= 0,012 (estatisticamente significativa ao nível de 5%)

TABELA 16 - Comparações isoladas entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Student Newman Keuls, em Anaerobiose para o Grupo 3 (Endoquil - Mamona).

Comparações	P
Ana_3 X Ana_2	< 0,05 *
Ana_3 X Ana_1	< 0,05 *
Ana_1 X Ana_2	< 0,05 *

* - estatisticamente significativa ao nível de 5%

TABELA 17 - Comparações entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Friedman, em Aerobiose para o Grupo 3 (Endoquil - Mamona).

Grupo 3	Média	DP
Aerobiose 1	2,66	1,14
Aerobiose 2	0,56	0,87
Aerobiose 3	5,51	0,84

DP: desvio-padrão

p= 0,001 (estatisticamente significativo ao nível de 5%)

TABELA 18 - Comparações isoladas entre os três tempos (colheitas), realizadas com o teste de Student Newman Keuls, em Aerobiose para o Grupo 3 (Endoquil - Mamona).

Comparações	P
Aero_3 X Aero_2	< 0,05 *
Aero_3 X Aero_1	< 0,05 *
Aero_1 X Aero_2	< 0,05 *

* - estatisticamente significativo ao nível de 5%

5.3. - Comparações Intergrupos

As comparações entre os três grupos estão ilustradas nas tabelas 19 a 25. Utilizou-se o Teste de Kruskal Wallis com um nível de significância de 5% para a comparação geral. Quando existiu diferença estatisticamente significativa, aplicou-se o teste de Student Newman Keuls para as comparações individuais.

TABELA 19 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Anaerobiose no tempo 1.

Grupo	Média	DP
1 - Hipoclorito	4,16	2,66
2 - Clorexidina	4,61	1,14
3 - Mamona	3,80	1,26

DP: desvio-padrão

$p = 0,717$ (estatisticamente não significante ao nível de 5%)

TABELA 20 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Anaerobiose no tempo 2.

Grupo	Média	DP
1 - Hipoclorito	2,11	1,62
2 - Clorexidina	1,70	1,51
3 - Mamona	2,19	1,13

DP: desvio-padrão

$p = 0,751$ (estatisticamente não significante ao nível de 5%)

TABELA 21 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Anaerobiose no tempo 3.

Grupo	Média	DP
1 - Hipoclorito	6,24	0,76
2 - Clorexidina	3,76	2,10
3 - Mamona	4,98	1,03

DP: desvio-padrão

$p = 0,035$ (estatisticamente significante ao nível de 5%)

TABELA 22 - Comparações individuais entre os três grupos com o teste de Student Newman Keuls, em Anaerobiose no tempo 3.

Comparações	p
Hipoclorito X Clorexidina	< 0,05 *
Hipoclorito X Mamona	< 0,05 *
Mamona X Clorexidina	> 0,05 ^{ns}

* - estatisticamente significativa ao nível de 5%

ns - estatisticamente não significativa

TABELA 23 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Aerobiose no tempo 1.

Grupo	Média	DP
1 - Hipoclorito	3,30	2,13
2 - Clorexidina	3,34	2,33
3 - Mamona	2,66	1,14

DP: desvio-padrão

p= 0,852 (estatisticamente não significativa ao nível de 5%)

TABELA 24 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Aerobiose no tempo 2.

Grupo	Média	DP
1 - Hipoclorito	1,04	1,00
2 - Clorexidina	1,89	1,82
3 - Mamona	0,56	0,87

DP: desvio-padrão

p= 0,411 (estatisticamente não significativa ao nível de 5%)

TABELA 25 - Comparações entre os três grupos, realizadas com o teste de Kruskal Wallis, em Aerobiose no tempo 3.

Grupo	Média	DP
1 - Hipoclorito	5,35	1,18
2 - Clorexidina	3,46	2,15
3 - Mamona	5,51	0,84

DP: desvio-padrão

$p = 0,095$ (estatisticamente não significante ao nível de 5%)

6- DISCUSSÃO

6 - DISCUSSÃO

Até o final do século dezenove não se conhecia a importância dos microrganismos bucais no desenvolvimento e perpetuação das alterações inflamatórias e periapicais. Só em 1894 quando MILLER⁴⁵ iniciou suas pesquisas nesta área, observando esfregaços obtidos de canais radiculares com polpas expostas e necrosadas, é que os questionamentos começaram a ser elucidados. Notou que algumas espécies localizavam-se na câmara pulpar enquanto outras habitavam o interior do canal radicular, permitindo, portanto a continuação do processo de destruição até atingirem o tecido periapical.

Estes dados foram confirmados por KAKEHASHI; STANLEY; FITZGERALD⁴⁰ ao comprovarem que a presença desta microbiota foi determinante no processo de reparo de polpas expostas ao meio bucal, ou seja, a sua permanência no sistema de canais radiculares acarretará em insucesso do tratamento endodôntico, evidenciando a importância da utilização de substâncias antimicrobianas que pelo menos contribuíam para a redução desta microbiota^{1,3,6,9,10,11,25,49,61,71}.

De acordo com MÖLLER apud DAHLÉN; MÖLLER⁴⁶ algumas bactérias poderiam invadir a polpa por meio das lesões cariosas, pela exposição pulpar direta traumática ou iatrogênica, pela membrana periodontal, pela corrente sanguínea, entretanto, o sistema de defesa do organismo, na maioria das vezes consegue eliminá-las ou destruí-las. Se isto não ocorrer, provavelmente teremos uma infecção instalada.

A origem dos microrganismos foi discutida no trabalho de CHIRNSIDE¹⁴ que demonstrou a invasão dessas bactérias no tecido pulpar pelos túbulos dentinários expostos ao meio bucal sugerindo que os mesmos ficavam mais susceptíveis nestas condições. Neste estudo não foi possível determinar com precisão a causa de todas as condições necróticas instaladas nos dentes avaliados. Durante a anamnese verificou-se uma predominância de casos

relacionados a dentes restaurados e cariados, seguidos pelas lesões de cáries expostas sem tratamento restaurador prévio e por último três casos de traumas sem exposição pulpar visível clinicamente.

O tratamento endodôntico geralmente é suficiente para eliminar estes microrganismos, ou prevenir a infecção ou reinfecção dos tecidos periapicais. O modo mais freqüente de iniciar uma destruição pulpar é pela invasão dos microrganismos e de seus produtos tóxicos. As patologias endodônticas dependem, de um modo geral, da virulência das espécies bacterianas, das condições de integridade pulpar, assim como dos fatores de defesa do hospedeiro. Muitos microrganismos podem estar localizados não só no canal radicular e na dentina circundante como também no interior dos túbulos dentinários em extensões variadas de penetração. O preparo biomecânico desta forma é insuficiente, fato este por nós também observado, visto que, mesmo após a sua realização, utilizando soluções antimicrobianas, não foi possível a eliminação completa das bactérias.

Muitos pesquisadores^{3,8,9,16,25,49,} se empenharam em realizar trabalhos objetivando a melhoria das técnicas de cultivo, transporte e incubação de microrganismos, baseando-se no fato de que com a evolução e com o aprimoramento das metodologias, muitas espécies de microrganismos poderiam ser mais profundamente estudadas, dando condições de melhorias nos tratamentos. Estes dados foram confirmados após os trabalhos de SUNDQVIST^{76,77,78,79,80} que colaboraram para a identificação de espécies até então desconhecidas.

Os achados microbiológicos de diversas pesquisas^{1,5,27,47,50,77,78,90} têm demonstrado que as infecções dos canais radiculares são polimicrobianas com predominância de anaeróbias, devido à mudança nas condições ambientais, como o suprimento sangüíneo comprometido, as alterações nutricionais, a queda da tensão de oxigênio, a diminuição do potencial de óxido-redução do tecido e o estabelecimento de reações sinérgicas entre as bactérias, propiciando a instalação de reações periapicais, sejam granulomas, abscessos ou cistos⁷⁸.

6.1. - Da metodologia

Neste estudo, amostras provenientes de canais radiculares infectados foram cultivadas para avaliar a ação dos agentes irrigantes, seguindo uma metodologia bastante evidente na literatura. Novas ferramentas podem ser incluídas para a identificação dos microrganismos provenientes dos canais radiculares, como preconizado por SIQUEIRA JR⁶⁹, entretanto, as técnicas convencionais de cultura não devem ser abandonadas conforme ESTRELA²⁰.

Alguns pontos foram levados em consideração para a obtenção da amostra e a realização deste estudo, com o objetivo aumentar a confiabilidade do mesmo. Os pacientes deveriam apresentar boas condições de saúde para evitar a influência negativa de qualquer processo infeccioso que pudesse estar presente no organismo dos mesmos, além de não estarem usando qualquer medicação, principalmente antibióticos, que poderia interferir na resposta do hospedeiro e, conseqüentemente nos resultados.

Outro ponto bastante importante nos trabalhos comparativos é a homogeneidade dos grupos ao início do tratamento, tornando as comparações mais confiáveis. Os três grupos estudados apresentavam uma similaridade muito grande, com ausência de diferenças estatisticamente significantes, tanto para anaerobiose como para aerobiose na 1ª colheita (tempo 1), como ilustram as tabelas 19 e 23.

Para a seleção dos dentes anteriores superiores, tomou-se o cuidado de escolher aqueles que realmente fossem portadores de necrose pulpar, comprovada por meio dos testes de sensibilidade pulpar e que possuísem área radiolúcida definida na região periapical, diagnosticada pelo exame radiográfico periapical. A presença destas duas características foi de fundamental importância para que, na primeira sessão de atendimento clínico não houvesse surpresas ao realizarmos a abertura coronária e nos depararmos com tecido pulpar ainda com vitalidade ou sangramento, o que dificultaria a colheita do material.

Os dentes não poderiam ter sido submetidos a nenhum tratamento endodôntico prévio, não deveriam estar envolvidos por problemas periodontais e, deveriam também apresentar uma estrutura coronária que possibilitasse a realização de um isolamento absoluto adequado, evitando assim, a contaminação do campo operatório e dos dentes com produtos salivares.

A padronização da colheita dos espécimes de microrganismos para o exame microbiológico seguiu as recomendações de MÖLLER apud DAHLÉN; MÖLLER⁴⁶ que evidenciou a importância da manutenção da cadeia asséptica. O material utilizado durante o tratamento, bem como os campos cirúrgicos e luvas foram previamente esterilizados e seguiu-se um protocolo de desinfecção dos dentes e do campo operatório baseado nos trabalhos de BUCHBINDER⁹; ROLPH et al.⁶⁴, FOUAD et al.²⁴, SIQUEIRA JR; RÔÇAS⁷⁰ com o propósito de impedir a penetração de microrganismos do meio bucal para o interior dos canais radiculares.

Como já foi comprovada a diminuição da eficácia do hipoclorito de sódio de acordo com o tempo de preparo, temperatura e condições de armazenamento⁵⁷, optou-se neste estudo, que todas as substâncias a serem utilizadas, quer sejam as irrigadoras, neutralizadoras ou para a antissepsia fossem preparadas um dia antes do atendimento de cada paciente, para impedir possíveis alterações de suas propriedades. O detergente derivado do

óleo de mamona foi cedido pelo Professor Doutor Gilberto Chierice, do Instituto de Química de São Carlos - USP exclusivamente para a realização de pesquisas e sua utilização obedeceu ao prazo de validade pré-estabelecido pelo fabricante.

O acondicionamento das soluções irrigadoras seguiu o modelo sugerido por FERREIRA et al.²³, utilizando tubetes de anestésicos vazios e esterilizados, determinando precisamente a quantidade de líquido injetado nos canais radiculares de modo que todos os dentes receberam o mesmo volume das soluções irrigadoras em teste.

A colheita das amostras dos canais radiculares foi realizada com cones de papel absorvente esterilizados, baseada no trabalho realizado por PINHEIRO⁵⁸ que verificou a necessidade do uso de pelo menos 3 a 4 cones de papel objetivando colher o máximo de material para uma quantificação mais exata da microbiota endodôntica. A esterilidade dos cones de papel foi confirmada em todos os casos pela ausência de culturas positivas em Tioglicolato de Sódio sem Indicador.

A padronização das técnicas de instrumentação foi importante para que nenhum canal fosse submetido a maior ou menor ação dos instrumentos, interferindo diretamente nos resultados uma vez que, ao avaliarmos a ação das soluções irrigadoras deveríamos eliminar qualquer fator que pudesse ampliar ou diminuir a efetividade das mesmas. Tais instrumentos foram descartados após a instrumentação de no máximo quatro canais radiculares, evitando também, que sua efetividade pudesse exercer alguma influência²³.

Em amostras coletadas para pesquisa, em que se empregam soluções com propriedades antimicrobianas, o uso de agentes neutralizantes destas

substâncias faz-se necessário para se ter certeza que nenhum vestígio do irrigante seja transferido para o meio de cultura, alterando o crescimento bacteriano^{21,46}. Por esta razão, seguindo as recomendações de ESTRELA²⁰ utilizou-se neste estudo o tiosulfato de sódio a 5% e do *Tween* 80 a 1% mais lecitina a 0,5% para a neutralização do hipoclorito de sódio e da clorexidina, respectivamente. A neutralização do detergente derivado do óleo de mamona foi realizada pelo soro fisiológico, conforme comunicação pessoal com o Professor Doutor Gilberto Chierice.

MORSE JR; YATES⁴⁹ em uma extensa revisão da literatura sobre os aspectos que influenciaram a Endodontia dos anos setenta, observou que havia uma grande incidência de culturas negativas de canais radiculares que se tornavam positivas entre uma sessão e outra de atendimento. Sugeriu que uma das possibilidades da ocorrência deste fato estava relacionada com a capacidade seladora do material obturador provisório. Diante disto, no presente trabalho, optou-se pela utilização do cimento obturador provisório Dentalville (Dentalville do Brasil – Joinville, SC) baseando-se nos achados de OLIVEIRA; PÉCORA; FRAGA⁵² que verificaram sua superioridade comparada com outros cimentos testados.

Nesta pesquisa as amostras obtidas dos canais radiculares foram imediatamente transferidas para criotubos contendo PBS que se comportou como um eficiente meio de transporte⁷² mantendo a viabilidade dos microrganismos no período compreendido entre a colheita e a semeadura no meio de cultura. Estes dados foram confirmados pela ocorrência ou não de crescimento microbiano observado no caldo Tioglicolato de Sódio sem Indicador.

O meio de cultura (TSA) utilizado para a semeadura dos microrganismos nas placas de petri foi utilizado conforme TCHAOU et al.⁸³, com acréscimo de

---

hemina, vitamina K e sangue de carneiro, permitindo o crescimento de anaeróbios de crescimento lento, corroborando os achados de CARLSSON; FRÖLANDER; SUNDQVIST¹² e JEANSONE; WHITE³⁸.

6.2. - Dos Resultados

6.2.1. - Comparação intragrupos

6.2.1.1 - Hipoclorito de Sódio a 1,0%

O uso do hipoclorito de sódio na terapia endodôntica foi sugerido por WALKER⁸⁷ em 1936, e enfatizado pelos trabalhos de GROSSMAN; MEIMAN³¹, em 1941. Estes autores preconizaram inicialmente o uso da soda clorada a 5% como o solvente mais eficiente, tendo a capacidade de dissolver o tecido pulpar num período de 20 minutos a 2 horas. Segundo SPANGBERG et al.⁷³, em 1973, o requerido efeito antibacteriano desta solução começaria a ocorrer a partir da concentração de 1%. Apesar da efetividade comprovada desta substância, PASHLEY et al.⁵⁶, REEH; MESSER⁶⁰ e INGRAM³⁷ descreveram alguns problemas decorrentes deste tipo de irrigação, como uma severa reação inflamatória periapical.

De acordo com a tabela 8, houve diferença estatisticamente significativa na comparação dos três tempos (1ª, 2ª e 3ª colheitas microbiológicas) quando o hipoclorito de sódio a 1,0% (grupo 1) foi analisado sobre os microrganismos anaeróbios. Os valores médios dos logaritmos das ufc reduziram da 1ª para a 2ª colheita, porém aumentaram na 3ª colheita.

Para verificar entre quais grupos existiam estas diferenças, aplicou-se o teste de Student Newman Keuls (Tab. 9 e Fig. 21). Observou-se diferença estatisticamente significativa da 1ª para a 2ª colheita, em decorrência da redução das médias dos números de ufc, mostrando uma boa ação antimicrobiana imediata desta substância sobre os anaeróbios, como relatado na literatura compulsada. SIMÕES; SAMPAIO; DEBELIAN⁶⁸ observaram que o hipoclorito de sódio a 1% foi bem tolerado pelos tecidos e mostrou um alto poder bactericida, demonstrando mais efetividade do que diversas marcas comerciais do líquido de Dakin. Entretanto, verificou-se diferença

estatisticamente significativa da 2ª para a 3ª colheita, pelo aumento das médias dos números de ufc, evidenciando que o hipoclorito de sódio a 1,0% não impediu a recolonização do canal radicular pelos microrganismos anaeróbios após 72 horas. Provavelmente, a presença de microrganismos nos túbulos dentinários associada a uma possível ausência de efeito residual do hipoclorito tenha colaborado para a recolonização bacteriana.

FIGURA 21 - Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 1, nos três tempos colheita em Anaerobiose.

Com base na tabela 10, observou-se diferença estatisticamente significativa na comparação dos três tempos (1ª, 2ª e 3ª colheitas microbiológicas) quando o hipoclorito de sódio a 1,0% (grupo 1) foi analisado sobre os microrganismos aeróbios. Os valores médios dos logaritmos das ufc reduziram da 1ª para a 2ª colheita, porém aumentaram na 3ª colheita.

Novamente aplicou-se o teste de Student Newman Keuls (Tab. 11 e Fig. 22) para verificar em quais grupos estavam estas diferenças. Houve diferença estatisticamente significativa da 1ª para a 2ª colheita, pela redução das médias dos números de ufc, mostrando efetividade antimicrobiana imediata desta substância sobre os aeróbios assim como observado com os anaeróbios.

Porém, tanto da 1ª para a 3ª como da 2ª para a 3ª colheita constatou-se diferença estatisticamente significativa mostrando um aumento microbiano, sugerindo de alguma forma que o efeito residual do hipoclorito de sódio a 1,0% parece ser um pouco menos eficiente para os microrganismos anaeróbios.

FIGURA 22 - Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 1, nos três tempos colheita em Aerobiose.

6.2.1.2 - Clorexidina a 2%

Após a análise dos resultados e aplicação do teste estatístico de Friedman (Tab.12) observou-se que a clorexidina a 2,0% (grupo 2) se comportou de maneira semelhante ao hipoclorito de sódio a 1% no que diz respeito a sua atuação sobre a microbiota anaeróbia. Seu desempenho da 1ª para a 2ª colheita foi estatisticamente significativa, proporcionando uma diminuição nas médias dos números de ufc, por outro lado, ocorreu um aumento considerável da 2ª para a 3ª colheita, estatisticamente significativa (Tab. 13 e Fig. 23), comprovado pela aplicação do teste de Student Newman Keuls. Estes resultados confirmam os achados de CERVONE; TRONSTAD; HAMMOND¹³ que observaram um efeito antimicrobiano da clorexidina em todas as bactérias testadas (microrganismos aeróbios e anaeróbios). OHARA;

TORABINEJAD; KETTERING⁵¹ observaram a efetividade da clorexidina a 2% sobre seis espécies de bactérias anaeróbias.

FIGURA 23 - Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 2, nos três tempos colheita em Anaerobiose.

O efeito da clorexidina a 2% sobre os microrganismos aeróbios está descrito na tabela 14 e figura 24 e mostra que apesar de ter ocorrido diminuição dos valores médios da 1ª para a 2ª colheita e aumento dos mesmos da 2ª para a 3ª colheita eles não foram considerados estatisticamente significantes após a aplicação do teste de Friedman, não havendo necessidade, portanto de comparações pelo teste de Student Newman Keuls .

Assim como observamos em relação ao hipoclorito, a clorexidina parece não ter também um efeito residual satisfatório a ponto de impedir a recolonização bacteriana aeróbia, discordando de WHITE; HAYS; JANER⁸⁹, que em 1997, observaram que a clorexidina a 2% apresentava uma alta substantividade comprovada em um estudo *in vitro*. LEONARDO et al.⁴², em 1999, também verificaram um efeito antimicrobiano da clorexidina, além da sua substantividade após 48 horas.

FIGURA 24- Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 2, nos três tempos colheita em Aerobiose.

6.2.1.3 - Endoquil (Mamona)

As comparações realizadas por meio do teste de Friedman para o Endoquil (grupo 3) mostraram diferenças estatisticamente significantes nos três tempos estudados (1ª, 2ª e 3ª colheitas microbiológicas) sobre os anaeróbios. Os valores médios dos logaritmos das ufc reduziram da 1ª para a 2ª colheita, porém aumentaram da 2ª para a 3ª colheita e da 1ª para a 3ª colheita (Tab. 15), concordando com os estudos de FERREIRA²², que também observou a atividade antimicrobiana desta solução. Além disto, SUGUIMOTO⁷⁵ e LAMANO CARVALHO et al.⁴¹ demonstraram a biocompatibilidade do polímero da mamona.

O teste de Student Newman Keuls (Tab. 16 e Fig. 25) foi aplicado para verificar entre quais grupos ocorreram estas diferenças. Observou-se diferença estatisticamente significativa da 1ª para a 2ª colheita, em virtude da diminuição

das médias dos números de ufc, demonstrando uma atuação imediata eficiente do Endoquil sobre os microrganismos anaeróbios. Entretanto, houve diferença estatisticamente significativa da 2ª para a 3ª colheita e da 1ª para a 3ª colheita, devido ao aumento das médias dos números de ufc. Supõe-se que o Endoquil não possui ação residual suficiente para uma redução dessas bactérias.

FIGURA 25 - Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 3, nos três tempos colheita em Anaerobiose.

Para os microrganismos aeróbios, o Endoquil se comportou de forma semelhante com relação a sua atuação sobre os anaeróbios. Ao analisar sua atuação nos três tempos de colheita observou-se, pelo teste de Friedman, a ocorrência de diferença estatisticamente significativa de acordo com a tabela 17.

Houve diferença estatisticamente significativa da 1ª para a 2ª colheita, mostrando uma atuação efetiva imediatamente após o preparo biomecânico, porém o aumento das médias das ufc da 2ª para a 3ª colheita e da 1ª para a 3ª colheita, com diferença estatisticamente significativa, sugere que esta substância também não foi efetiva na eliminação tardia dos microrganismos aeróbios (Tab. 18 e Fig. 26). Segundo YAMASHITA et al.⁹¹ o detergente de mamona pode ser sugerido para novos estudos como irrigante endodôntico.

FIGURA 26 - Representação gráfica dos valores médios de ufc para o Grupo 3, nos três tempos colheita em Anaerobiose.

Pôde-se observar em uma análise geral dos resultados que as três soluções irrigadoras tiveram comportamentos semelhantes: da 1ª para a 2ª colheita mostraram uma redução considerável no número de microrganismos, mas com um aumento significativo da 2ª para a 3ª colheita.

Baseando-se na evidente participação dos microrganismos no desenvolvimento e na manutenção das infecções no canal radicular e na região periapical, parece oportuno reportar que a presença destes conduzirá ao fracasso do tratamento. De acordo com os resultados descritos acima deveremos, então, considerar pertinente a utilização de uma medicação intracanal, tendo em vista que o preparo biomecânico auxiliado por substâncias antimicrobianas, isoladamente, não garantem a completa remoção de todo o contingente de microrganismos do sistema de canais radiculares.

6.2.2. - Comparação intergrupos

Após a realização das comparações intragrupos, uma nova comparação foi feita (intergrupos) para a verificação da existência ou não de diferenças na efetividade das substâncias analisadas. Existem inúmeros estudos semelhantes na literatura^{7,10,17,18,22,38,51,53,85,93}, porém, estudos controlados e *in vivo*^{42,67}, ainda são escassos

Ao realizarmos as comparações entre hipoclorito, clorexidina e mamona, como pode ser visto nas tabelas 19 e 23, após aplicação do teste estatístico de Kruskal Wallis, verificou-se que não houve diferença estatisticamente significativa nas 1^{as} colheitas microbiológicas (tempo1) tanto para os microrganismos anaeróbios como para os aeróbios. Desta forma, é possível afirmarmos que no presente estudo partimos de amostras homogenias, isto é, apesar de avaliarmos indivíduos diferentes com condições microbiológicas iniciais heterogenias, e de ser uma amostra relativamente pequena (seis indivíduos por grupo) houve similaridade entre os três grupos ao início dos tratamentos.

Desta mesma maneira, nas tabelas 20 e 24, observou-se ausência de diferenças estatisticamente significantes quando foram comparados os três grupos nas 2^{as} colheitas microbiológicas (tempo2), para os dois tipos de microrganismos. Concluiu-se, portanto, que o comportamento das soluções em teste foi semelhante após a realização do preparo biomecânico, apesar da média das ufc da clorexidina ter sido menor do que nos outros grupos para os anaeróbios (Tab. 20), enquanto que, o menor valor em aerobiose (Tab. 24) foi observado no grupo do Endoquil.

Por outro lado, as comparações realizadas com os três grupos para as 3^{as} colheitas microbiológicas (tempo 3) em anaerobiose mostraram valores

diferentes estatisticamente significantes (Tab.21). Para a determinação entre quais das três substâncias houve esta diferença, novamente utilizamos o teste estatístico de Student Newman Keuls conforme ilustra a tabela 22. Ocorreu diferença significativa entre o grupo 1 e o grupo 2 (hipoclorito x clorexidina), evidenciando um poder antimicrobiano superior da clorexidina após 72 horas, fato este que se deve provavelmente a sua propriedade de substantividade já constatada na literatura. Estes achados estão concordantes com TANOMARU FILHO; LEONARDO; DA SILVA⁸², onde verificaram uma maior efetividade da clorexidina a 2% quando comparada com o hipoclorito de sódio a 5,25% sobre dentes de cães com necrose pulpar e lesão periapical e OHARA; TORABINEJAD; KETTERING⁵¹, que acharam resultados semelhantes.

Por outro lado, alguns autores descrevem a superioridade do hipoclorito frente à clorexidina. RINGEL et al⁶². concluíram que o hipoclorito de sódio a 2,5% se mostrou significativamente mais eficiente do que o gluconato de clorexidina a 0,2% do ponto de vista antimicrobiano durante as irrigações nos tratamentos endodônticos de dentes com necrose pulpar. Em 1990, por meio de estudo in vitro, ORSTAVIK; HAAPASALO⁵⁵ ressaltaram que o hipoclorito de sódio além de ter sido um bom antimicrobiano (superior a clorexidina), também demonstrou a propriedade de dissolução de tecido. Concordante com estes achados BRISEÑO et al.⁷, constataram que as soluções de clorexidina foram menos eficazes que as de hipoclorito e, o hipoclorito de sódio a 1% utilizado com irrigação manual mostrou maior efetividade sobre ambas espécies bacterianas (*Escherichia coli* e *Streptococcus mutans*).

Discordando das opiniões anteriores, JEANSONE; WHITE³⁸, em 1994, concluíram que se o efeito antimicrobiano fosse o único requisito importante para uma solução irrigadora, a clorexidina seria o irrigante de escolha. YAMASHITA⁹² também verificou melhores resultados pra a solução de clorexidina a 2% quando comparada ao hipoclorito de sódio a 2,5%.

Na análise realizada entre os grupos 1 e 3 (hipoclorito x mamona) onde também houve diferença estatisticamente significativa, a mamona se comportou melhor do que o hipoclorito, mostrando uma maior efetividade na atuação sobre os microrganismos anaeróbios, entretanto no estudo de FERREIRA et al.²³, o detergente do óleo de mamona e o hipoclorito de sódio a 0,5% mostraram ações antimicrobianas semelhantes.

Na comparação entre os grupos 2 e 3 (clorexidina x mamona) não foi observada diferença estatisticamente significativa, o que poder ser atribuída a uma semelhança na atuação destas substâncias sobre os anaeróbios. Para FERREIRA²², a clorexidina foi a droga que demonstrou a melhor eficiência quando comparada com a Endoquil e que a eficácia delas variou de acordo com o tipo de bactéria. LEONARDO et al.⁴³ também verificaram a superioridade da clorexidina a 2%, quando comparada com o hipoclorito de sódio a 0,5% e com o detergente de mamona (Endoquil). De acordo com o trabalho concluíram que todas as espécies bacterianas testadas foram inibidas pela clorexidina a 2%, enquanto que o Endoquil só se mostrou efetivo sobre os microrganismos Gram positivos, e o hipoclorito de sódio a 0,5% sobre o *Staphylococcus aureus*.

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre as três soluções irrigadoras, após 72 horas (3ª colheita microbiológica), sobre a microbiota aeróbia, mesmo que o valor médio do grupo da clorexidina tenha sido menor do que o dos outros grupos o que pode ser comprovado pela tabela 25. Com outra metodologia, porém utilizando as mesmas substâncias, YAMASHITA et al.⁹¹, verificaram, por meio de microscopia eletrônica de varredura, que todas se comportaram de forma semelhante com relação a sua atuação sobre a superfície dentinária.

Diante dos resultados deste trabalho, fica evidente a importância de pesquisas clínicas, comparando novas substâncias ou materiais endodônticos, com aqueles já consagrados na literatura.

7- CONCLUSÕES

7 - CONCLUSÃO

Dentro do que se propôs analisar e baseados nos resultados obtidos sobre o efeito antimicrobiano das substâncias irrigadoras nos canais radiculares, pode-se concluir:

7.1 - em relação a sua atuação:

- 7.1.1 - todas as substâncias irrigadoras utilizadas mostraram uma redução significativa do número de bactérias da 1ª para a 2ª colheita, tanto em anaerobiose como em aerobiose, não sendo significativa apenas a clorexidina em aerobiose;
- 7.1.2 - da 2ª para a 3ª colheita houve um aumento considerável do número de bactérias, com diferença significativa entre as substâncias irrigadoras tanto em anaerobiose como em aerobiose, não sendo significativa apenas a clorexidina em aerobiose;
- 7.1.3 - a constatação do aumento do número de bactérias da 1ª para a 3ª colheita evidencia que só o preparo biomecânico do canal radicular, apesar de diminuir o número de bactérias não é suficiente para conter a recolonização bacteriana;

7.2 - em relação às diferenças de comportamento:

- 7.2.1 - em relação à 2ª colheita, as três substâncias irrigadoras se comportaram de maneira semelhante na redução do número de microrganismos;
- 7.2.2 - em relação à 3ª colheita em anaerobiose, a clorexidina a 2% e o detergente derivado do óleo de mamona a 10% foram significativamente melhores que o hipoclorito de sódio a 1% quanto à recolonização bacteriana.

REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABOU-RASS, M.; BOGEN, G. Microorganisms in closed periapical lesions. **Int J Endod**, v.3, n.1, p.39-47, Jan. 1998.
2. ABDULLAH, M. et al. Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. **J Endod**, v.31, n.1, p.30-6, Jan. 2005.
3. APPLETON, J.L.T. **Bacterial infection in dental practice**. 4 ed. Philadelphia, p.353, Lea Febizer, 1950.
4. ARAÚJO, C.A.C.A.; TEÓFILO, J.M; BRENTGANI, L.G. Cronologia de reparo alveolar do rato após implante de Ricinus comunis. In: XIII **Reunião Anual da SBPQO**, 1996. Anais. 1996. p.120.
5. BAUMGARTNER, J.C.; FALKLER, W.A. Bacteria in the apical 5mm of infected root canals. **J Endod**, v.17, n.8, p.380-3, Aug. 1991.
6. BORSSÉN. E.; SUNDQVIST, G. Actinomyces of infected dental root canals. **Oral Surg**, v.51, n.6, p.643-8, June 1981.
7. BRISEÑO, B. M. et al. Efficacy of different irrigation methods and concentration of root canal irrigants solutions on bacteria in the root canal. **Endod Dent Traumatol**, v. 8, n. 1, p. 6-11, Feb. 1992.
8. BROWN, L.R.; RUDOLPH, C.E. Isolation and identification of microorganisms from unexposed canals of pulp-involved teeth. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.10, n.10, p.1094-9, Oct. 1957.
9. BUCHBINDER, M. Results of culturing root canals by a simple anaerobic method. **J Dent Res**, v.19, p.426, 1940.
10. BYSTRÖM, A. et al. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. **Endod Dent Traumatol**, v.3, n. 2, p. 58-63, Apr. 1987.
11. BYSTRÖM, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the 0,5% sodium hypochlorite in endodontic therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 55, n. 3, p. 307-312, Mar. 1983.

12. CARLSSON, J.; FRÖLANDER, F.; SUNDQVIST, G. Oxygen tolerance of anaerobic bacteria isolated from necrotic dental pulps. **Acta Odont Scand**, v.35, n.3, p.139-45, June 1977.
13. CERVONE, F.; TRONSTAD, L.; HAMMOND, B. Antimicrobial effect of chlorhexidine in a controlled release delivery system. **Endod Dent Traumatol**, v. 6, n. 1, p. 33-36, Feb. 1990.
14. CHIRNSIDE, I.M. Bacterial invasion of non-vital dentin. **J Dent Res**, v.40, n.1, p.134-40, Jan./Feb. 1961.
15. COHEN, S.; BURNS, R.C. **Pathways of the pulp**. 5ed. St. Louis, Mosby-Year Book Inc, 1991.
16. CRAWFORD, J.J.; SHANKLE, R.J. Application of newer methods to study the importance of root canal and oral microbiota in endodontics. **Oral Surg**, v.14, n.9, p.1109-23, Sept. 1961.
17. D'ARCANGELO, C.; VAVARA, G.; DE FAZIO, P. An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. **J Endod**, v.25, n.5, p.351-3, May 1999.
18. DELANY, G.M. et al. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 53, n. 5, p. 518-23, May 1982.
19. ERCAN, E. et al. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorate in infected root canal: in vivo study. **J Endod**, v.30, n.2, Feb. 2004.
20. ESTRELA, C. **Ciência endodôntica**. São Paulo – Artes Médicas, 2004.
21. FERRAZ, C.C. et al. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. **J Endod**, v. 27, n. 7, p. 452-455, July 2001.
22. FERREIRA, C.M. **Avaliação “in vitro” da atividade antimicrobiana de substâncias utilizadas em Endodontia sobre as bactérias anaeróbias**. Bauru, 1999. 119p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

23. FERREIRA, C.M. et al. Evaluation of the antimicrobial activity of three irrigantes solutions in teeth with pulpar necrosis. **Braz Dent J**, v.10, n.1, p.15-21, 1999.
24. FOUAD, A.F. et al. PCR- based identification of bacteria associated with endodontic infections. **J Clin Microbiol**, v.40, n.9, p.3223-31, Sept. 2002.
25. FUENDELING, M.J.; CARTNEY, T.L. Roentgenografic diagnosis of vital pulp infection as confirmed by bacteriologic exmination. **Am J Roentgenol**, v.40, p.386-91, 1938.
26. GARCIA JR., I.R. **Utilização dos implantes de polímero – Medpor, poliuretana de mamona e matriz óssea bovina em defeitos ósseos maxilares. Análise histológica e histométrica em macacos.** Araçatuba, 2000. 85p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia – Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
27. GOMES, B.P.F.A.; LILLEY, J.D.; DRUCKER, D.B. variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. **Int Endod J**, v.29, n.4, p. 235-241, July 1996.
28. GORDON, T.M.; DAMATO, D.; CHRISTNER, P. Solvent effect of various dilutions of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. **J Endod**, v.7, n.10, p.466-469, Oct. 1981.
29. GRIFFEE, M.B. et al. The relationship of *Bacterioides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.50, n.5, p.457-61, Nov. 1980.
30. GROSSMAN, L.I. Irrigation of root canals. **J Am Dent Assoc**, v.30, p.1915-7, Dec. 1943.
31. GROSSMAN, L.I.; MEIMAN, B.W. Solution of pulp tissue by chemical agents. **J Am Dent Assoc**, v.28, p.223-5, Feb. 1941.
32. HARRISON, J.W.; WAGNER, G.W.; HENRY, C.A. Comparison of the antimicrobiol effectiveness of regular and fresh scent clorox. **J Endod**, v.16, n.1, p.328-30, 1990.

-
33. HERMANN, B.W. **Calcium hidroxyd als mittel zum behandeln und jülled von wurzelkanolon. Würzburg Med Diss** Apud: MAISTO, O.A. Endodoncia. Buenos Aires, Mundi, p. 220, 1975.
  34. HUNTER, W. **The role of sepsis and antisepsis in medicine.** Lancet, 1911, p.79-86. Apud: KUTTLER, Y. Endodoncia práctica. México, Alpha, p.4, 1961.
  35. IGNÁCIO, H. **Utilização do cimento derivado do polímero da mamona no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em coelhos.** Ribeirão Preto, 1995. 96p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
  36. INGLE, J.I.; TAINTOR, J.F. **Endodontics.** 3th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1985.
  37. INGRAM, T.A. Response of the human eye to accidental exposure to sodium hypochlorite. **J Endod**, v.16, n.5, p.235-8, May 1990.
  38. JEANSONNE, M.J.; WHITE R.R. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. **J Endod**, v. 20, n. 6, p. 276-278, June 1994.
  39. JENKINS, S.; ADDY, M.; WADE, W. The mecanism of action of chlorexidine. **J Clin Periodont**, v.15, n.7, p.415-24, 1988.
  40. KAKEHASHI, S.; STALEY, H.R; FITZGERALD, R.J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.20, n.3, p.340-9, Sep. 1965.
  41. LAMANO CARVALHO, T.L. et al. Histologic and histometric evaluation of rat alveolar wound healing around polyurethane resin implants. **Int J Oral Max Surg**, v.26, n.2, p.149-52, April 1997.
  42. LEONARDO, M.R. et al. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorexidine used as a root canal irrigating solution. **J Endod**, v.25, n.3, p.167-71, Mar. 1999.
  43. LEONARDO, M.R. et al. In vivo evaluation of the antimicrobial activity of a castor oil – based irrigant. **J Endod**, v.27, n.12, p.717-9, Dec. 2001.
  44. LEONARDO, M.R.; LEAL, J.M. **Endodontia.** Tratamento de canais radiculares. 2.ed. São Paulo, Panamericana, 1991.

45. MILLER, W.D. An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. **Dental Cosmos**, v.36, p.505-28, 1894.
46. MÖLLER A.J.R. **Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth: methodological studies (thesis)**. Apud: DAHLÉN, G.; MÖLLER, A.J.R. Contemporary oral microbiology and immunology. St. Louis: Mosby Year Book 1992.
47. MÖLLER A.J.R. et al. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. **Scan J Dent Res**, v.89, n.6, p.475-84, June 1981.
48. MOORER; W.R.; WESSELINK, P.R. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. **Int J Endod**, v.15, n. p.187-196, 1982.
49. MORSE JR, F.W.; YATES, M.F. Root canal studies: anaerobic cultures. **J Dent Res**, v.21, p.5-8, 1942.
50. NAIR, P.N.R. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. **J Endod**, v.13, n.1, p.29-39, Jan. 1987.
51. OHARA, P.; TORABINEJAD, M.; KETTERING, J.D. Antibacterial effects of various endodontic medicaments on selected anaerobic bacteria. **J Endod**, v.19, n.10, p.498-500, Oct. 1993.
52. OLIVEIRA, E.C.G.O.; PÉCORA, J.D.; FRAGA, S.C. Avaliação *in vitro* da infiltração marginal de alguns materiais seladores provisórios. **Rev APCD**, v.58, n.4 , p.301-5, jul./ag. 2004.
53. ÖNÇAG, Ö., et al. Compararison of antibacterial and toxic affect of various root canal irrigants. **Int Endod J**, v.26, n. 6, p. 423-432, June 2003.
54. ONDERDONK, T.W. The treatment of unfilled root canals. **Int Dent J.**, v.22, p. 20-2, 1901.
55. ORSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod Dent Traumatol**, v. 6, n. 4, p. 142-149, Aug. 1990.
56. PASHLEY, E.L. et. al. Citotoxic effects of NaOCl on vital tissue. **J Endod**, v.11, n.12, p.525-8, 1985.

-
57. PÉCORA, J.D. et al. Estudo sobre o *shelf life* da solução de Dakin. **Rev Odont Univ São Paulo**, v.1, p.3-7, 1987.
58. PINHEIRO, F.M. **O ultra-som em Endodontia: avaliação *in vivo* de sua ação antimicrobiana em dentes humanos**. Ribeirão Preto, 1991. 163p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.
59. PISKIN, B.; TURKUN, M. Stability of various sodium hypochlorite solutions. **J Endod**, v.21, p.253-5, 1995.
60. REEH, E.S.; MESSER, H.H. Long-term paresthesia following inadvertent forcing of sodium hypochlorite through perforation in maxillary incisor. **Endod Dent Traumat**, v.5, n.4, p.200-3, Aug. 1989.
61. RIBEIRO, F.C. **Distribuição das bactérias nas estruturas mineralizadas de dentes com necrose pulpar e granuloma apical**. Bauru, 1997. 171p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo.
62. RINGEL, A.M. et al. J.M. In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. **J Endod**, v.8, n. 5, p. 200-204, May 1982.
63. ROLLA, G.; LOE, H.; RINDOM-SCHIOTT, C. Retention of chlorhexidine in the human oral cavity. **Archs Oral Biol**, v.16, p.1109-16, 1971.
64. ROLPH, H.J. et al. Molecular identification of microorganisms from endodontic infections. **J Clin Microbiol**, v.39, n.9, p.3282-89, Sept. 2001.
65. SASSONE, L.M. et al. The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of NaOCL and chlorhexidine *in vitro*. **Int Endod J**, v.36, n.12, p.848-52, Dec. 2003.
66. SHOVELTON, D.S. The presence and distribution of microorganisms within non-vital teeth. **British Dental J**, v.117, n.3, p.101-7, Aug. 1964.
67. SILVA, C.A.G. **Efetividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio e clorexidina como irrigantes endodônticos**. Porto Alegre, 1999. Dissertação (Mestrado) – Universidade Luterana do Brasil.

-
68. SIMÕES, W.; SAMPAIO, J.M.P; DEBELIAN, G.D. Verificação da tolerância tecidual e poder bactericida do hipoclorito de sódio a 0,5% e 1% usados na clínica odontológica. **Rev Paul Odontol**, n.4, p.35-41, 1989.
69. SIQUEIRA JR, J.F. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 94, n.3, p. 281-93, Sep. 2002.
70. SIQUEIRA JR, J.F.; RÔÇAS, I.N. Polymerase chain reaction detection of *Propionibacterium propionicus* and *Actinomyces radicidentis* in primary and persistent endodontic infections. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 96, n.2, p. 215-22, Aug. 2003.
71. SIREN, E.K. et al. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. **Int Endod J**, v.30, n.2, p.91-5, Mar. 1997.
72. SOBER, H.A.; HARTE, R.A. Handbook of **biochemistry**: selected data for molecular biology. Cleveland, Chemical Rubber, 1968.
73. SPANGBERG, L. et. al. Biologic effects of dental materials. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.36, n.6, p.856-71, 1973.
74. STEWART, G.G. The importance of chemomechanical preparation of the root canal. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.8, n.8, p.993-7, Aug. 1955.
75. SUGUIMOTO, R.M. **Implante de polímero de mamona (Ricinus communis) sobre o mento. Estudo histológico em macacos.** Araraquara, 1997. 102p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia – Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
76. SUNDQVIST, G. **Bacteriological studies of necrotic dental pulps.** Umea, 1976, 94p. University odontological dissertation no 7 – University of Umea.
77. SUNDQVIST, G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.78, n.4, p.522-30, Oct. 1994.
78. SUNDQVIST, G. Ecology of the root canal flora. **J Endod**, v. 18, n. 9, p.427-430, Sep. 1992.

-
79. SUNDQVIST, G. et al. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. **Infec Immun**, v.25, n.2, p.685-93, Aug. 1979.
80. SUNDQVIST, G.; JOHANSSON, E.; SJOGREN, V. Prevalence of black-pigmented *Bacterioides* species in root canal infections. **J Endod**, v.15, n.1, p.13-9, Jan. 1989.
81. SYDNEY, G.B.; ESTRELA, C. Influence of root canal preparation on anaerobic bacteria in teeth with asymptomatic apical periodontitis. **Braz Endod J**, v.1, n.1, p.7-14, 1996.
82. TANOMARU FILHO, M.; LEONARDO, M.R.; DA SILVA, L.A. Effect of irrigating solution and calcium hydroxide root canal dressing on the repair of apical and periapical tissues of teeth with periapical lesion. **J Endod**, v.28, n.4, p.295-299, Apr. 2002.
83. TCHAOU, W.S. et al. *In vitro* inhibition of bacteria from root canals of primary teeth by various dental materials. **Ped Dent**, v.17, p.351-5, 1995.
84. TEIXEIRA, F.B. et al. Remoção de *smear layer* dos canais radiculares utilizando o irrigante Endoquil. **RBO**, v.58, n.6, p.424-6, nov./dez. 2001.
85. VAHDATY, A.; PITT FORD, T.R.; WILSON, R.F. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. **Endod Dent Traumatol**, v.9, n.6, p. 243-248, Dec. 1993.
86. VAUGHAN, M.E.; GARNICK, J.J. The effect of a 0,125%chlorhexidine rinse on inflammation after periodontal surgery. **J Period**, v.60, n.12, p.704-8, Dec. 1989.
87. WALKER, A. Definite and dependable therapy for pulpless teeth. **J Am Dent Assoc**, v.23, p.1418, 1936.
88. WALKHOFF, O. Apud ZERLOTTI FILHO, E. **Contribuição à terapêutica dos condutos radiculares**. Campinas, 1959. 87p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia da Universidade Católica de Campinas.

-
89. WHITE, R.R.; HAYS, G.L.; JANER, L.R. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. **J Endod**, Baltimore, v.23, n.4, p. 229-231, Apr. 1997.
  90. WITTGOW JR, W.C; SABISTON, C.B. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. **J Endod**, v.1, n.5, p.168-71, May 1975.
  91. YAMASHITA, et al. Avaliação de superfícies biomecanizadas utilizando diferentes soluções irrigadoras. In: V Jornada Odontológica: “Madre Mary Clare Millea” – Universidade do Sagrado Coração, 2004. Anais.
  92. YAMASHITA, J.C. **Avaliação da microbiota e da reparação apical e periapical após preparo biomecânico de canais radiculares com diferentes soluções irrigadoras, em dentes de cães com reação periapical crônica.** Araraquara, 2004. 197p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia – Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
  93. YESILSOY, C. et al. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. **J Endod**, v.21, n.10, p.513-515, Oct. 1995.

ABSTRACT

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate *in vivo* the antimicrobial activity of 1% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine and 10% mamone detergent in 18 root canals of humans anterior teeth whit pulpar necrosis and periapical lesion. After antiseptic access surgery, the first microbiological sample was taken with four sterile absorvent paper cones. The instrumentation was realized with K files using 1,8mL of the irrigants solutions and the second microbiological sample was taken. The third collects was made 72h after the biomechanical prepare. The samples were transported on PBS solution, submitted to serial decimal dilution, streaked in plates with Tryptic Soy Agar, and incubed in aerobic and anaerobic conditions. The number of colony-forming units (cfu) was counted after incubation periods. According to the sample studied, the applied methodology and the results obtained, we concluded that all the irrigant solutions showed significant numerical reduction after biochemical preparation, and an increase in number of microorganisms after 72 hours. The biochemical preparation was not able to prevent the bacterial recolonization. After 72 hours the 2% chlorhexidine and 10% mamone were more effective than 1% sodium hypochlorite.