

Paulo Francisco Schmitt

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO PODER DE
DESINFECÇÃO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO
A 5,25°% VERSUS HIPOCLORITO DE SÓDIO A
0,5°% ASSOCIADO AO ENDO-PTC, DE CANAIS
RADICULARES CONTAMINADOS IN VITRO
POR ENTEROCOCCUS FAECALIS



C.P.O. São Leopoldo Mandic
Centro de Pós-Graduação
Campinas

2005

PAULO FRANCISCO SCHMITT

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO PODER DE DESINFECÇÃO
DO HIPOCLORITO DE SÓDIO A 5,25% VERSUS HIPOCLORITO
DE SÓDIO A 0,5% ASSOCIADO AO ENDO-PTC, DE CANAIS
RADICULARES CONTAMINADOS IN VITRO POR
ENTEROCOCUS FAECALIS**

Dissertação apresentada ao Centro de Pós-
Graduação / C.P. O. São Leopoldo Mandic, para
a obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Endodontia.

CAMPINAS

2005

PAULO FRANCISCO SCHMITT

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO PODER DE DESINFECÇÃO
DO HIPOCLORITO DE SÓDIO A 5,25% VERSUS HIPOCLORITO
DE SÓDIO A 0,5% ASSOCIADO AO ENDO-PTC, DE CANAIS
RADICULARES CONTAMINADOS IN VITRO POR
ENTEROCOCUS FAECALIS**

Dissertação apresentada ao Centro de Pós-Graduação / C.P. O. São Leopoldo Mandic, para a obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Di Spagna Souza

CAMPINAS

2005

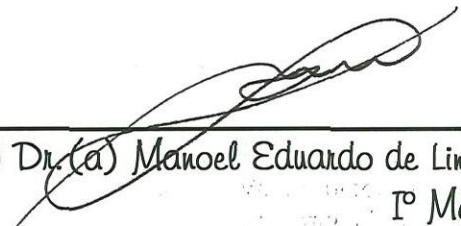
C.P.O. – CENTRO DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS
SÃO LEOPOLDO MANDIC

Folha de Aprovação

A dissertação intitulada: "Avaliação comparativa do poder de desinfecção do hipoclorito de sódio a 5,25% versus hipoclorito de sódio a 0,5% associado ao endo-ptc, de canais radiculares contaminados *in vitro* por *enterococcus faecalis*" apresentada ao Centro de Pós-Graduação, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração: Endodontia em 24 de Agosto de 2.005, à comissão examinadora abaixo nominada, foi aprovada após liberação pelo orientador.



Prof. (a) Dr. (a) Arlindo Di Spagna Souza
Orientador



Prof. (a) Dr. (a) Manoel Eduardo de Lima Machado
1º Membro



Prof. (a) Dr. (a) Raul Capp Pallotta
2º Membro

A Deus, pelo dom da vida, que Ele me concedeu, por tudo que me permitiu e permite realizar. Por todas as vezes que suas mãos me carregaram e pelas alegrias que me concedeu.

Aos meus pais, Felipe Arlindo e Alma Leonor (in memoriam), pelo amor e carinho e pelo exemplo de vida, humildade e fé, sempre me apoiando em todos os momentos da minha vida, para que fosse possível alcançar meus ideais.

A minha esposa Lezita, pela compreensão e paciência, nos momentos de ausência, pelo carinho e apoio constantes, tornando possível este trabalho, pela dedicação aos nossos filhos nos momentos de minha ausência.

A meus filhos, William e Laísa, dizer a eles da alegria de tê-los como filhos, pelo amor, carinho e felicidade que representam em minha vida. Agradecendo à compreensão deles por todos os dias que estive ausente.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Arlindo di Spagna Souza, pela amizade, consideração e respeito, pelos ensinamentos transmitidos e orientação, pelo companheirismo, motivação e confiança, essenciais para a concretização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Manoel Eduardo de Lima Machado, Coordenador do curso, pela sua riqueza de conhecimentos transmitidos e pelo incentivo, fundamentais para a realização deste trabalho.

A Prof^{ta}. Dra. Maria Letícia Borges Brito, pelos conhecimentos, amizade e dedicação.

Ao Prof. Dr. Raul Capp Pallota, pelos conhecimentos transmitidos e incentivo.

Ao Dr. Ângelo Hatwig, pela sua decisiva colaboração e pelos conhecimentos, com os quais tornou possível a realização deste trabalho e pela sua estima e apreço.

Ao Dr. Helio de David e toda a equipe do Laboratório Adolpho Lutz, pela prestimosa colaboração.

Aos Professores da área de domínio conexo, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos meus colegas de curso, Alia, Aline, Andréa, Bruno, Cimara, Eluise, Guilherme, Renato, Ricardo, Rodrigo, Salvador e Tatiana, pela amizade e pelo crescimento no convívio agradável.

A minhas secretárias Cleidi e Cleri, amigas e eficientes no auxílio do desenvolvimento deste trabalho.

A senhora Glauci, da biblioteca da FOUSP, pela sua inestimável ajuda, cordialidade e atenção.

A todas as pessoas que de maneira direta ou indireta colaboraram na execução deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE GRÁFICOS.....	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS	11
RESUMO.....	12
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES.....	16
2.2 BACTÉRIA SELECIONADA	33
3. PROPOSIÇÃO	50
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	51
4.1 MATERIAL:.....	51
4.2 MÉTODOS.....	53
4.2.1 <i>Preparo dos canais</i>	53
4.2.2 <i>Meios de Cultura</i>	56
4.2.3 <i>Bactéria Enterococcus faecalis</i>	57
4.2.3 <i>Grupos experimentais</i>	57
5. RESULTADOS	62
6. DISCUSSÃO	76
7. CONCLUSÃO.....	86
ABSTRACT	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
ANEXO	

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – A) O ápice do dente selado; B) Os dentes montados em bloco de gesso com a resina epóxi (Araldite®) pedra para serem manipulados durante o experimento..... 54
- FIGURA 2 - Retorno dos dentes embalados pela empresa M.I.C. da cidade de Porto Alegre-RS, onde foram esterilizados por óxido de etileno..... 55
- FIGURA 3 - O meio de cultura BHI, previamente preparado, no interior dos canais radiculares, usando uma seringa descartável, depositando cinco gotas do meio no interior de cada dente 56
- FIGURA 4 - A análise do crescimento bacteriano pela turbidez do meio BH 59
- FIGURA 5 - A análise do crescimento bacteriano nas colônias do meio Agar sangue..... 60
- FIGURA 6 - Escores referentes à ausência de crescimento bacteriano, mínimo crescimento bacteriano, médio crescimento bacteriano e crescimento bacteriano intenso para o meio BHI..... 60
- FIGURA 7 - Escores referentes à ausência de crescimento bacteriano, mínimo crescimento bacteriano, médio crescimento bacteriano e crescimento bacteriano intenso para o meio Agar sangue..... 61

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - Médias de crescimento bacteriano nos grupos experimentais, culturas imediatas, no meio de cultura BHI	62
GRÁFICO 2 - Médias de crescimento bacteriano nos grupos experimentais, culturas mediatas, no meio de cultura BHI	63
GRÁFICO 3 - Médias de crescimento bacteriano nos grupos experimentais, culturas imediatas, no meio de cultura Agar.....	64
GRÁFICO 4 - Médias de crescimento bacteriano nos grupos experimentais, culturas mediatas, no meio de cultura Agar.....	64

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas, no meio de cultura BHI, nos tempos de 24 e 48hs de leitura.....	65
TABELA 2 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas mediatas, no meio de cultura BHI, nos tempos de 24 e 48hs de leitura.....	66
TABELA 3 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas, no meio de cultura Agar, nos tempos de 24 e 48hs de leitura	67
TABELA 4 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas mediatas, no meio de cultura Agar, nos tempos de 24 e 48hs de leitura	67
TABELA 5 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas e mediatas, no meio de cultura BHI, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com soda clorada	68
TABELA 6 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas e mediatas, no meio de cultura BHI, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com Endo PTC	69
TABELA 7 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas e mediatas, no meio de cultura Agar sangue, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com soda clorada	70
TABELA 8 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas e mediatas, no meio de cultura Agar sangue, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com Líquido de Dakin associado ao Endo PTC.....	71
TABELA 9 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas, nos dois meios de cultura, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com soda clorada	72
TABELA 10 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas, nos dois meios de cultura, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com líquido de Dakin associado ao Endo PTC	73
TABELA 11 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas mediatas, nos dois meios de cultura, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com soda clorada	74

TABELA 12 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas, nos dois meios de cultura, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com líquido de Dakin associado ao Endo PTC	75
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

%	porcentagem
BHI	Brain Heart Infusion
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
MEV	microscopia eletrônica de varredura
ml	mililitro
mm	milímetro
°C	graus Celsius
TSB	Trypticase Soy Broth

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a desinfecção propiciada pelo hipoclorito de sódio a 5,25% comparado ao hipoclorito de sódio a 0,5% associado ao Endo PTC, como substâncias químicas auxiliares do preparo de canais em dentes infectados *in vitro* pela bactéria *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Para tanto foram utilizados 34 incisivos centrais superiores humanos extraídos que tiveram o canal preparado com sobreinstrumentação de 2 mm com a lima de número 40. Após, o ápice foi selado com resina epóxi e foram montados em blocos de gesso, para serem manipulados. Os dentes foram esterilizados com Óxido de Etileno e, então divididos aleatoriamente em quatro grupos, assim distribuídos: Grupo 1 – 15 dentes preparados com Soda clorada; Grupo 2 – 15 dentes preparados com líquido de Dakin associado ao Endo PTC; Grupo 3 – 2 dentes de controle negativo; Grupo 4 – dois dentes de controle positivo. Foram inoculadas 5 gotas do meio de cultura BHI no interior dos canais, com contaminação pela bactéria selecionada para o estudo, permanecendo em estufa a 37°C por sete dias para a completa infecção do canal radicular. Decorrido este tempo, foi realizado o preparo dos canais com brocas Gates Glidden® e limas endodônticas, usando as substâncias químicas auxiliares de acordo com os grupos determinados. No grupo controle negativo, foi inoculado somente o meio de cultura e no grupo de controle positivo, foi colocado o meio de cultura e as bactérias. Após o preparo, os canais foram irrigados com 5ml de Tiosulfato de sódio, para inativar o hipoclorito de sódio remanescente, e imediatamente com 5 ml de soro fisiológico sendo, então, feita a primeira coleta de amostras para cultura – cultura imediata. Os dentes retornaram para a estufa por mais 24 horas, quando foi feita a segunda coleta de amostras para cultura – cultura mediata. Foi avaliado o crescimento bacteriano através de escores – sem crescimento, crescimento mínimo, crescimento médio e crescimento intenso – que teve a leitura realizada em dois tempos, 24 horas após a inoculação e 48 horas após a inoculação em dois meios de cultura BHI e Agar sangue. Após análise estatística dos resultados, concluiu-se que o líquido de Dakin associado ao Endo PTC e a soda clorada não foram capazes de eliminar totalmente a contaminação por *Enterococcus*

faecalis do interior de canais radiculares, *in vitro*, não havendo diferença estatisticamente significativa entre elas.

1. INTRODUÇÃO

Um dos objetivos buscados no preparo dos canais de dentes com necrose pulpar em Endodontia, onde ocorre à presença de microrganismos, é a desinfecção do canal radicular. Para se potencializar esta desinfecção, utilizam-se substâncias químicas auxiliares ao preparo do canal e dentre elas destaca-se o hipoclorito de sódio, nas suas diversas concentrações, puro ou associado com outros produtos. Porém, quanto maior a concentração, maior a sua toxicidade, fazendo com que se busque a desinfecção através de uma substância de concentração menor.

Neste sentido, a introdução da associação Endo-PTC/Líquido de Dakin em 1973 (PAIVA & ANTONIAZZI), vem mostrando resultados satisfatórios no que se refere à desinfecção e à qualidade do pós-operatório, desde então.

Sabe-se que o hipoclorito de sódio possui atividade antimicrobiana e grande capacidade de dissolução tecidual, para reduzir ou eliminar a microbiota de canais radiculares infectados, promovendo remoção de detritos e favorecendo a ampliação do canal para posterior obturação. Observe-se a ação solvente orgânico e de gorduras, degradando ácidos graxos pelo processo de saponificação, neutralização de aminoácidos formando água e sal, reação de cloraminação que interfere no metabolismo celular, inibindo enzimas bacterianas sem oxidação irreversível. Pelo pH, reage interferindo na membrana citoplasmática com inibição enzimática, alteração da biossíntese do metabolismo celular e degradação fosfolipídica.

Entretanto, com a evolução da Microbiologia, novas espécies bacterianas têm sido descobertas, além de se ter aprimorado o conhecimento das interações

entre elas. Desta forma é necessário saber se esta associação é realmente eficiente, principalmente à luz das novas tecnologias e técnicas de preparo dos canais, sendo fundamental uma substância química auxiliar que seja eficiente na limpeza e desinfecção sediada no interior do canal.

Assim sendo, sabendo que as soluções mais concentradas de hipoclorito de sódio são eficientes na remoção de matéria orgânica do interior do canal radicular, torna-se necessário saber se a associação do líquido de Dakin e Endo PTC é eficaz na remoção da infecção encontrada no interior do canal radicular de dentes com polpa necrosada.

Ademais, o conhecimento da flora bacteriana do interior dos canais radiculares também fez com que a preocupação acerca da capacidade de descontaminação do sistema de canais radiculares fosse potencializada. Neste sentido direciona-se o presente estudo, para elucidar a capacidade de desinfecção de canais contaminados in vitro por *Enterococcus faecalis*, do hipoclorito de sódio 0,5% (líquido de Dakin) em comparação ao hipoclorito de sódio 5,25% (soda clorada).

2. REVISÃO DA LITERATURA

A fim de facilitar a compreensão desta revisão da literatura, esta será dividida em duas partes. Na primeira serão abordadas as substâncias químicas auxiliares utilizadas em Endodontia e, na segunda, a microbiologia associada à terapia endodôntica.

2.1 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES

Por se ocupar do estudo, prevenção e tratamento das patologias pulpares e seus efeitos no periápice, a Endodontia visa à manutenção do elemento dentário, com saúde, desempenhando suas tarefas estéticas e funcionais.

GROSSMAN & MEIMAN (1941) determinaram a necessidade do uso de uma substância que tivesse ação solvente sobre o tecido pulpar. Ao analisarem soluções empregadas em terapia do canal radicular, constataram a eficiência da soda clorada como tal.

PAIVA (1959) descreveu o processo de irrigação e aspiração durante a biomecânica do preparo do canal radicular, discutindo algumas características das substâncias para irrigação. Recomenda o uso de bases e detergentes, devido às suas qualidades além da irrigação na mudança de limas e ao final da fase mecânica do preparo.

No intuito de fazer associações de substâncias químicas para promover uma maior desinfecção dos canais radiculares STEWART *et al.* (1961) compararam a efetividade do Gly-Oxide (solução de 10% de Peróxido de uréia em veículo de

glicerol anidro) com o peróxido de hidrogênio aquoso no preparo químico-mecânico de canais radiculares infectados, ambos associados ao hipoclorito de sódio. Para avaliar sua efetividade realizaram culturas prévia, imediata (após o preparo dos canais) e mediata (na ocasião da segunda visita). Concluíram que inicialmente todos os dentes estavam infectados, resultando 97,7% das culturas imediatas negativas após o preparo com Gly-Oxide, ao passo que, com peróxido de hidrogênio, 90,9% das culturas foram negativas e, na terceira cultura resultaram negativas 65,7% das amostras do Gly-Oxide e 48,5% no Peróxido de hidrogênio.

Avaliando a ação solvente do hipoclorito de sódio a 5,25% em canais, SENIA *et al.* (1971) realizaram preparo das raízes mesiais de molares inferiores, predeterminando o tempo de 15 e 30 minutos de irrigação com o hipoclorito de sódio. Nos canais onde usaram hipoclorito de sódio por 15 minutos ocorreu remoção do tecido pulpar em 50% ao nível de 1 mm do ápice, enquanto que no nível de 5 mm do ápice, 95% dos canais mostraram total remoção do tecido pulpar. Nos casos onde o hipoclorito foi usado por 30 minutos, 45% dos canais mostraram remoção do tecido pulpar a 1 mm do ápice e todos mostraram remoção total do tecido pulpar a 3 mm do ápice.

Preocupados com a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio, PAIVA & ANTONIAZZI (1973) analisaram as variações do teste bacteriológico feito após a instrumentação de dentes tratados com peróxido de uréia e detergente veiculados em carbowax (Endo PTC) associado ao hipoclorito de sódio (líquido de Dakin), em dentes com polpa mortificada, com cultura positiva prévia, realizando culturas imediata e mediata (72 horas após o preparo). Concluíram que o uso desta associação constitui agente eficaz para combate à infecção sediada no canal.

A preocupação com a limpeza e modelagem dos canais radiculares também foi descrita por SCHILDER (1974), com remoção do substrato orgânico e desenvolvimento de uma forma dentro do canal. A limpeza e modelagem do canal facilitam a esterilização e obturação tridimensional permanente do canal radicular. Para a ocorrência desta limpeza indica o uso de copiosa irrigação de hipoclorito de sódio na concentração de 2% a 4%, puro ou associado.

BOMBANA *et al.* (1974) analisaram o potencial irritativo do Endo PTC associado ao líquido de Dakin, seguido de irrigação com Tergentol/Furacin, Endo PTC associado ao líquido de Dakin, seguido de irrigação com Tergentol/Furacin, seguido de corticosteróide/antibiótico comparados à soda clorada associada à água oxigenada, no saco conjuntival do olho do coelho. Observaram as alterações promovidas nos tempos de 15 minutos, 1 hora, 2, 3, 6 e 24 horas, considerando ocorrências de hiperemia, edema, exsudato, reflexos e brilho. Concluíram que a reação inflamatória do grupo onde foi usada soda clorada foi a mais severa denunciando a má tolerância dos tecidos aos fármacos empregados, já nos outros, ocorreu pequena resposta inflamatória.

Para exemplificar a alta toxicidade do hipoclorito de sódio a 5,25%, BECKER *et al.* (1974) relataram um caso clínico de injeção acidental de 0,5 ml no canal radicular e tecido periapical em um tratamento endodôntico de um pré-molar superior. O paciente reagiu imediatamente, apresentando dor extrema, após alguns segundos ocorreu edema extenso e profusa hemorragia pelo canal radicular. Instituíram terapia com antibiótico, antiinflamatório e analgésico. Após algumas horas o edema havia aumentado muito e a dor diminuído. Um dia após a injeção acidental o rosto do paciente parecia deformado pelo edema, sendo que após duas

semanas o edema havia cedido, porém com algumas equimoses, voltando ao normal após um mês.

Avaliando a efetividade bactericida da água oxigenada, soda clorada associada à água oxigenada, líquido de Dakin, Endo PTC associado ao líquido de Dakin e Tergentol associado ao Furacin-oto-solução, em função de sua velocidade de ação, WEY FILHO *et al.* (1975), com testes bacteriológicos nos tempos experimentais de 15 e 30 minutos, mostraram que o tempo foi fator de considerável importância e que o Endo PTC associado pelo líquido de Dakin e a água oxigenada usada com soda clorada foram ativos nos dois tempos experimentais.

Averiguando as reações de reparação de feridas produzidas em dorso de rato, considerando morfologia e histometria de fibras colágenas e fibroblastos, nos tempos de 1, 7, 14 e 28 dias, LAURETTI *et al.* (1975) observaram nas incisões onde usaram Endo PTC associado por líquido de Dakin, seguido irrigação com Tergentol-Furacin, que o processo reparacional mostrou não haver diferença em relação às feridas onde nenhuma substância foi usada.

CVEK *et al.* (1976), ao compararem o efeito antibacteriano da limpeza biomecânica do canal radicular com solução salina estéril e hipoclorito de sódio a 0,5% e 5% em incisivos superiores com necrose pulpar, realizando a coleta de amostras para cultura aeróbica e anaeróbica constataram que o efeito antibacteriano do hipoclorito de sódio foi superior à solução salina estéril. Que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos do hipoclorito de sódio a 0,5% e 5%.

Ao examinar, *in vivo*, a penetração de uma solução irrigadora endodôntica (hipoclorito de sódio) em dentes com polpa vital e necrótica, usando como teste da solução irrigadora diatrizoato de sódio, um poliiodeto usado em radiologia médica para delinear órgãos, realizando cinco tomadas radiográficas nos diversos tempos

operatórios. SALZGEBER & BRILLIANT (1977) mostraram que o contraste evidenciou a presença de hipoclorito de sódio apenas após completo preparo e com instrumento no interior do canal no comprimento de trabalho, em canais com polpa viva, ao passo que nos canais com polpa necrosada, esta evidenciação ocorria em uma etapa anterior de preparo do canal, quando era feito o preparo até o terço médio do canal.

Investigando o efeito das variações da concentração de solução de hipoclorito de sódio e o tempo de reação como solvente de tecido em dentes tratados *in vitro*, TREPAGNIER *et al.* (1977) usaram soluções de hipoclorito de sódio 0,5%, 2,5% e 5%, nos tempos de 1, 5, 15 e 60 minutos, concluíram que a degradação de colágeno com a solução de 5% de hipoclorito de sódio iniciou e se manteve por 60 minutos e que a solução de 5% foi 65% mais efetiva que o Líquido de Dakin.

Ao compararem o efeito de diluição do hipoclorito de sódio na dissolução de tecido necrótico, utilizando soluções de 5,25%, 2,5%, 1%, 0,5% de hipoclorito de sódio, HAND *et al.* (1978) constataram que a solução de hipoclorito de sódio a 5,25% foi significativamente mais efetiva como solvente de tecido necrótico que as outras soluções testadas, que não houve diferença estatística entre as soluções de hipoclorito de sódio a 0,5% e 1% e que não encontraram diferenças estatísticas nas propriedades das soluções de água destilada, solução salina normal, peróxido de hidrogênio e hipoclorito de sódio a 0,5, porém, houve diferença estatística entre o hipoclorito de sódio a 1% e água destilada e solução salina normal.

Para avaliar a ação solvente do hipoclorito de sódio a 5,25% sobre tecido pulpar humano vivo, ROSENFELD *et al.* (1978) instrumentaram os canais de pré-molares humanos jovens com 5 ml desta solução. Verificaram remoção da pré-

dentina onde os instrumentos tocaram as paredes, parecendo haver espaços de digestão no coto pulpar remanescente, com dentina na superfície. Nos canais acessórios houve alguma ação solvente, ao passo que onde apenas houve exposição do tecido pulpar, pareceu ter havido efeito digestivo no tecido pulpar vital, com efeito limitado ao acesso e diâmetro do canal e com hemorragia abaixo da superfície. Os níveis pulpares variaram de 0,5 a 3 mm abaixo da superfície cortada.

Investigando alterações na velocidade de ação e desempenho bactericida de soluções de hipoclorito de sódio, em diferentes concentrações, com e sem preparo do canal, AUN (1979) estudou as concentrações de hipoclorito de sódio a 0,5%, 1%, e 1,5%, com contato de 1, 5, 15 e 30 minutos em dentes com teste bacteriológico positivo e, após isso, realizou culturas, com leituras nos tempos de 24, 48 e 72 horas. Concluiu que variações de concentração e tempo de contato são capazes de modificar a ação antimicrobiana de uma solução de hipoclorito de sódio e que a adoção de instrumentos melhora a ação antimicrobiana da mesma solução.

Ao verificarem a capacidade antimicrobiana de algumas substâncias auxiliares da instrumentação conforme técnicas preconizadas por seus autores e isoladamente, na ausência de matéria orgânica, ANTONIAZZI *et al.* (1980) inocularam as bactérias *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus (Enterococcus) faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus liquefaciens*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* em tubos de ensaio onde haviam as referidas substâncias auxiliares, realizando leituras se ocorria turvação em 24, 48 e 72 horas. Concluíram que as técnicas de PAIVA & ANTONIAZZI (1973) (Endo PTC + líquido de Dakin), STEWART *et al.* (1961) (RCPrep + soda clorada) e Grossman (soda clorada e água oxigenada) mostraram capacidade antimicrobiana diferentes. O Endo-PTC associado ao líquido de Dakin e o RC-Prep reagindo com

soda clorada são identicamente efetivos, já avaliação individual das substâncias auxiliares demonstra que o líquido de Dakin, a soda clorada e a água oxigenada são efetivos no tempo inicial testado.

Em outro estudo semelhante, só que com presença de matéria orgânica, ANTONIAZZI *et al.* (1980) observaram que o Endo PTC/líquido de Dakin e RC-Prep/soda clorada não tiveram sua ação antibacteriana modificada na presença de matéria orgânica, ao passo que a água oxigenada/soda clorada mostrou alterações na ação antimicrobiana, sendo menos eficiente contra os *Streptococcus* testados.

Avaliando a ação antimicrobiana quando as substâncias auxiliares são adicionadas progressivamente à suspensão de microorganismos e a ação residual das mesmas, ANTONIAZZI *et al.* (1980) utilizaram as bactérias *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus (Enterococcus) faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus liquefaciens*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, levando as culturas para estufa a 37°C, e observando nos tempos de 24, 48 e 72 horas, verificaram que o Endo PTC/líquido de Dakin apresentou maior efetividade na destruição bacteriana, sendo que a associação detergente/Furacin não foi efetiva. De um modo geral as substâncias não apresentaram efeito residual.

KOSKINEN *et al.* (1980) analisaram a dissolução de tecido pulpar bovino em soluções endodônticas e constataram que as soluções de hipoclorito de sódio a 2,5% e 5% apresentaram a maior dissolução de tecido, sendo que a primeira dissolveu 90,8% e a segunda 96,7%, ao passo que a solução de 0,5% dissolveu 53,3% de tecido, sendo estas as soluções que apresentaram os melhores índices de dissolução de tecido pulpar bovino.

O grau de reversibilidade da resposta inflamatória no tecido conectivo periapical seguido de irrigação do canal radicular com concentrações de hipoclorito

de sódio a 0,9%, 2,1%, 4,1% e 8,4% foi analisado por THÉ *et al.* (1980) que verificaram não haver nenhuma diferença inflamatória na análise das concentrações da solução.

Comparando a ação bactericida de uma solução de hipoclorito de sódio a 2,6%, quando usada à temperatura ambiente (22°C) e a temperatura corpórea (37°C), em culturas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* e *Bacillus subtilis* nos tempos de 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 300 e 600 segundos com 0,5ml do material, CUNNINGHAM & JOSEPH (1980) constataram não haver diferença estatisticamente significativa, porém, ocorrendo eliminação mais rápida das bactérias quando a solução de hipoclorito de sódio era aquecida a temperatura corpórea.

O efeito de dissolução nas propriedades antibacterianas do hipoclorito de sódio foi avaliado por HARRISON & HAND (1981), em crescimento de *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* em TSB (Trypticase soy broth), testando soluções de hipoclorito de sódio a 5,25%, 2,5%, 1%, 0,5%, nos intervalos de 5, 10, 30, 45, 60 e 90 segundos e 2, 5 e 15 minutos. Verificaram que o hipoclorito de sódio a 0,5% somente apresentou cultura negativa no tempo de 15 minutos, enquanto que o hipoclorito de sódio a 1% apresentou cultura negativa nos tempos de 5 e 15 minutos e o hipoclorito de sódio a 2,5% apresentou cultura negativa nos tempos de 2, 5 e 15 minutos. Entretanto o hipoclorito de sódio a 5,25 % apresentou cultura negativa nos tempos de 45,60 e 90 segundos e 2, 5, 15 minutos.

GORDON *et al.* (1981) determinaram o efeito solvente de concentrações de 5%, 3%, 1% de hipoclorito de sódio em tecido vital e necrótico, nos tempos de 2, 5 e 10 minutos. Sendo que a solução de hipoclorito de sódio a 1% dissolveu cerca de 37% do tecido pulpar em 2 min, ao passo que as soluções de 3% e 5%

mostraram dissolver em torno de 70%, em 2 min. As soluções mostraram efeito semelhante para dissolver tecido necrótico ou tecido vital e não houve diferença significativa nos tempos de 5 e 10 minutos, na dissolução de tecido.

Em estudo semelhante, MOORER & WESSELINK (1982) usaram as concentrações de 0,6%, 1,2% e 3% de hipoclorito de sódio com pH estabilizado em 10 e 12 para dissolver tecido (fígado de coelho) no tempo de 20 minutos. O hipoclorito de sódio em pH 10, na concentração de 0,6% dissolveu aproximadamente 20% mais tecido que em pH 12. Na concentração de 1,2% em pH 10 dissolveu 10% menos tecido do que em pH 12, e na concentração de 3% apresenta dissolução semelhante em ambos os pHs. Quanto à capacidade de dissolução, a concentração de 0,6% dissolve aproximadamente 56% menos que 3% e 46% menos que 1,2%. A concentração de 3% dissolve aproximadamente 10% mais que a concentração de 1,2%.

Investigando se variações de concentração de hipoclorito de sódio, na presença de matéria orgânica, provocavam alterações na velocidade de ação no combate a bactérias no interior do canal radicular, AUN & PAIVA (1982) usaram soluções de 0,5%, 1% e 1,5% de hipoclorito de sódio com os tempos de 1, 5, 15 e 30 minutos. Concluíram que as variações de concentração e o tempo de contato são capazes de modificar a ação microbiana de uma solução de hipoclorito de sódio.

BYSTRÖM & SUNDQVIST (1983) analisaram o efeito do hipoclorito de sódio a 0,5%, comparado à solução salina estéril, no tratamento de dentes com polpa necrótica e periodontite apical, com métodos bacteriológicos, realizando cinco sessões para o preparo do canal. Confirmaram que o hipoclorito de sódio foi mais efetivo na eliminação de bactérias no interior do canal radicular e quanto maior o número de sessões, maior a eliminação de bactérias no interior do canal radicular.

Avaliando a eficiência clínica do hipoclorito de sódio e EDTA (Ácido etilenodiaminotetracético) como componentes de soluções irrigadoras por método bacteriológico, BYSTRÖM & SUNDQVIST (1985) usaram soluções de hipoclorito de sódio a 0,5%, a 5% e solução de hipoclorito de sódio a 5% com EDTA a 15%. Concluíram que ocorreu maior permanência de bactérias nos dentes tratados com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% em relação à solução de 5% e 5% com EDTA 15%, em que o número de culturas positivas foi idêntico estatisticamente.

GUIMARÃES *et al.* (1988) analisaram a tensão superficial de várias soluções utilizadas como irrigantes de canais radiculares e concluíram que o líquido de Dakin apresenta tensão superficial muito baixa, colocando-o em posição entre os tensoativos anfóteros e catiônicos.

Ao comparar a ação de limpeza do líquido de Dakin com a água destilada e Tergentol, com instrumentação ultra-sônica, VANSAN (1988) verificou que o líquido de Dakin promoveu canais radiculares mais limpos de detritos, a água destilada ocupou posição intermediária na limpeza dos canais radiculares e o tergentol teve o pior desempenho.

Ao estudarem as propriedades bactericidas e a tolerância tecidual do hipoclorito de sódio em duas concentrações 0,5% e 1%, em conjunto de camundongos, com tempos de observação de 24, 72 e 168 horas, SIMÕES *et al.* (1989) usaram várias bactérias (*Proteus sp*, *Streptococcus beta hemolítico*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus sanguis*, *Neisseria sicca*) e verificaram que do ponto de vista bacteriológico, as soluções se mostraram eficientes frente aos microorganismos estudados, sendo o hipoclorito de

sódio a 1% mais eficiente. Foram, todavia, bem toleradas pelo conjuntivo dos animais.

GUTIÉRREZ *et al.* (1990) verificaram por meio de MEV (microscopia eletrônica de varredura) as trocas que ocorrem nos túbulos dentinários resultante do preparo mecânico do canal radicular, em dentes que tiveram os canais expostos ao meio oral por tempo indeterminado e usaram no preparo água, solução fisiológica salina e hipoclorito de sódio a 5,25% com peróxido de hidrogênio a 3%. Ao analisarem os dentes com MEV, constataram que ocorreu presença de placa dental e smear layer em todos os dentes e onde foi usado o hipoclorito de sódio, encontraram grande quantidade de fibras colágenas e sais em alguns canais. Um dente apresentou um canal lateral preenchido com cristais de clorito de sódio e microrganismos, sais de clorito de sódio em todos os níveis do canal radicular.

Estudando o teor de cloro das soluções de hipoclorito de sódio encontradas no comércio e estabelecendo uma cronologia de envelhecimento que permite verificar a perda de cloro ao longo do tempo, além de determinar o tempo médio em que uma polpa é dissolvida *in vitro* sob a ação do hipoclorito de sódio nas concentrações de 5%, 2,5%, 1% e 0,5%, MILANO *et al.* (1991) titularam as soluções a cada 30 dias. Verificaram que ocorre diminuição do teor de cloro nas soluções de hipoclorito de sódio e que quanto maior a concentração, maior a perda de cloro, sendo que as soluções mais estáveis foram as de 2,5%. As soluções de hipoclorito de sódio têm capacidade de dissolução da polpa dental, na razão direta de suas concentrações.

A capacidade de limpeza de concentrações de hipoclorito de sódio 5,25%, 2,5%, 1% e 0,5%, descrita por BAUMGARTNER & CUENIN (1992) analisaram por MEV (microscópio eletrônico de varredura). Constataram que não houve diferenças

entre as soluções de testadas pela forma de sua utilização (seringa com agulha ou ultra-som), entretanto a solução de 0,5% manteve mais smear layer.

Investigando o efeito o líquido de Dakin e do EDTA a 15%, usados separadamente, alternadamente ou misturados, na permeabilidade dentinária de canais radiculares, PÉCORA *et al.* (1993) concluíram que o líquido de Dakin e o EDTA a 15% produziram permeabilidade dentinária estatisticamente similar, enquanto o uso das soluções alternadas ou misturadas mostrou maior permeabilidade dentinária que as soluções isoladas e a permeabilidade dentinária dos terços cervical e médio foi similar, porém superior à do terço cervical.

EHRICH *et al.* (1993) descreveram um caso de injeção acidental de hipoclorito de sódio a 5,25% no seio maxilar pelo dente primeiro molar superior que ao exame radiográfico mostrou a raiz palatina parecendo fina e convergente, com o seio maxilar com superposição de imagem. Após irrigação do canal o paciente relatou gosto do hipoclorito na garganta e uma sensação de queimação no seio maxilar direito e não foi possível verificar sangramento, nem edema intra ou extraoral. Após um dia o paciente descreveu certo desconforto no dente e congestão do seio maxilar, com um material amarelado em algumas vezes quando assoava o nariz.

Ao avaliarem a ação antimicrobiana de soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,5%, 1% e 5%, PUPO *et al.* (1994) usaram uma cultura de *Streptococcus faecalis*, *Staphilococcus albus* e flora mista e constataram que o hipoclorito de sódio foi bactericida nas três concentrações.

YESILSOY *et al.* (1995) compararam várias as concentrações de hipoclorito de sódio a 5,25%, 2,5% e 0,5% verificando a ação antibacteriana e in vivo, a ação de citotoxicidade e constataram uma ação efetiva na concentração de

5,25% contra bactérias aeróbias e anaeróbias, sendo que o hipoclorito a 2,5% tem ação moderada, ao passo que, a 0,5% sua eficácia é bastante diminuída, porém sua citotoxicidade se dá em relação inversa a sua ação bacteriana.

MARQUES (1997) avaliou comparativamente a atividade antimicrobiana de diferentes concentrações de Clorhexidina a 1%, 0,5% e 0,1% com o hipoclorito de sódio a 1%, como soluções irrigadoras de canal, através de provas microbiológicas, sobre bactérias (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e cultura mista do canal radicular), em função do tempo de contato. Concluiu que houve resultado positivo na eliminação bacteriana, entretanto quanto ao *Enterococcus faecalis*, somente o hipoclorito de sódio se mostrou efetivo. Já nas culturas de *Candida albicans*, nenhuma solução se mostrou capaz de eliminar os microorganismos. Concluiu ainda que tempo de contato e concentração se mostraram influentes sobre a atividade antimicrobiana das soluções testadas.

TÜRKÜN & CENGİZ (1997) investigaram a eficácia de limpeza do hipoclorito de sódio a 0,5% e se esta pode ser melhorada com o uso do hidróxido de cálcio. Concluíram que sob certas condições, a penetração de hidróxido de cálcio aumenta a eficácia de limpeza e dissolução de tecidos do hipoclorito de sódio, em nível de 5%. A combinação de hipoclorito de sódio a 0,5%, associado ao hidróxido de cálcio com ativação ultra-sônica, pode ser usada efetivamente na irrigação de canais radiculares, ao invés de hipoclorito de sódio a 5%.

Comparando o efeito antibacteriano de irrigantes endodônticos em bactérias anaeróbias e facultativas comumente encontradas em infecções endodônticas, SIQUEIRA JUNIOR *et al.* (1998) usaram hipoclorito de sódio a 0,5%, 2,5% e 4% nas bactérias anaeróbias (*Phorphyromonas endodontalis*,

Porphyromonas gingivalis, *Prevotella intermédia* e *Prevotella nigrescens*) e facultativas (*Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus sobrinus*). Concluíram que a solução de hipoclorito de sódio a 4% mostrou valores estatisticamente iguais ao hipoclorito de sódio a 2,5% e superior ao hipoclorito de sódio a 0,5%.

Ao compararem a atividade antibacteriana de soluções de hipoclorito de sódio a 1% e a 5,25% sobre quatro bacilos produtores de pigmento (*Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella nigrescens* e *Prevotella intermedia*), SIQUEIRA JUNIOR *et al.* (1999) concluíram que a solução de hipoclorito de sódio a 5,25% deve ser empregada no preparo de canais radiculares infectados.

MARTINS *et al.* (1999) através de revisão de literatura enfocaram as principais características e efeitos das soluções de hipoclorito de sódio, EDTA e ácido cítrico, no preparo químico-mecânico do canal radicular. São características do hipoclorito de sódio: ação antimicrobiana, necrolítica, antitóxica, desodorante, solvente de tecidos e citotóxica.

D'ARCANGELO *et al.* (1999) testaram o efeito de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio nas concentrações de 5%, 3%, 1% e 0,5% nas seguintes bactérias: 1) Facultativas – *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus* e *Streptococcus sanguis*; 2) Microaerófilas – *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; 3) anaeróbias estritas – *Actinomyces odontolyticus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella melaninogenica*. Concluíram que as soluções irrigadoras testadas mostraram forte efeito bactericida, não ocorrendo diferença entre as diversas concentrações do hipoclorito de sódio.

SIQUEIRA JUNIOR *et al.* (2000) compararam a redução bacteriana intracanal in vitro produzida por instrumentação e irrigação com solução de hipoclorito de sódio a 1%, 2,5% e 5,25% e constataram que ocorreu redução de bactérias no interior dos canais, não encontrando diferenças estatisticamente significantes entre os grupos experimentais.

Verificando a capacidade de limpeza dos canais radiculares promovida pelas soluções de hipoclorito de sódio a 0,5%, 1%, 2,5% e 5%, PÉCORA *et al.* (2000) constataram que as soluções de hipoclorito de sódio promovem limpeza dos canais radiculares diretamente proporcional à concentração e que o terço apical apresentava-se com mais detritos que o terço médio em todos os casos do trabalho.

Ao determinar a concentração inibitória mínima (CIM) das soluções de hipoclorito de sódio a 1%, 2% e 5%, sobre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*, nos tempos de 5, 10, 15, 20 e 30 minutos, ESTRELA (2000) obteve os resultados de que a CIM era de 0,1% do hipoclorito de sódio para *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. Já para *Bacillus subtilis* e a mistura de todos os microrganismos era de 1%, enquanto que a eficácia antimicrobiana do hipoclorito de sódio foi constatada em todas as concentrações e todos os tempos estudados.

Ao avaliarem a efetividade do hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5,25% na eliminação de *Enterococcus faecalis*, GOMES *et al.* (2001) procederam à cultura da bactéria *Enterococcus faecalis* em placas de Petry, onde colocaram as substâncias irrigadoras e as observaram nos tempos de 10, 30 e 45 segundos; 1, 3, 5, 10, 20, 30, 60 e 120 minutos. Constataram que o tempo necessário para eliminar *E. faecalis* depende da concentração e do tipo de

substância usada e o estudo confirmou a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio.

Investigando o efeito do hipoclorito de sódio a 0,5%, 1%, 2,5%, e 5% na velocidade de dissolução de tecido pulpar bovino à temperatura ambiente e avaliar o nível residual de cloro, pH e tensão superficial após dissolução, SPANÓ *et al.* (2001) verificaram que a velocidade de dissolução do tecido pulpar bovino foi de acordo com a concentração da solução de hipoclorito de sódio, com significância estatística, em razão diretamente proporcional, ocorrendo regressão da concentração de cloro após a dissolução, em razão inversamente proporcional à concentração da solução de hipoclorito de sódio, como também ocorreu com a redução do pH, e em razão diretamente proporcional com a diminuição da tensão superficial.

Ao comparar as mudanças nas superfícies dentárias em dentes humanos extraídos realizando irrigação com hipoclorito de sódio a 5,25% e 0,5%, SIM *et al.* (2001) concluíram que a solução de hipoclorito de sódio a 5,25% afeta as propriedades para alterar o módulo de elasticidade e resistência flexural da dentina.

SOARES *et al.* (2001) avaliaram a influência das soluções irrigadoras na incidência de dor pós-operatória, em dentes com tratamento endodôntico em sessão única, realizando o preparo dos canais com hipoclorito de sódio nas concentrações de 1%, 2,5% e 5%. Concluíram que não houve significativa relação entre a concentração das soluções de hipoclorito de sódio e a ocorrência de dor pós-operatória.

Avaliando a citotoxicidade e genotoxicidade de produtos comerciais à base de hipoclorito de sódio através do SOS Chromotest, testadas em cultura de *Escherichia coli*, GAHYVA & SIQUEIRA JUNIOR (2001) usaram as marcas de hipoclorito de sódio Ájax®, Brilhante®, Kokinos® e Virex®. Concluíram que todas as

soluções apresentaram citotoxicidade sobre a bactéria estudada em maior ou menor grau, com exceção da marca Kokinos®.

HIDALGO *et al.* (2002) investigaram a eficácia terapêutica do hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,00005 a 0,5%, verificando a atividade bacteriana e paralelamente o mecanismo citotóxico que o hipoclorito gerou na indução de dano oxidativo. Concluíram que o hipoclorito de sódio a 0,5% mostrou força antibacteriana total e, as concentrações de 0,25 e 0,025 produziram atividade antimicrobiana parcial, enquanto que concentrações de hipoclorito de sódio superiores a 0,05% mostraram ser altamente citotóxicas para os fibroblastos.

ESTRELA *et al.* (2002) descreveram o mecanismo de ação do hipoclorito de sódio e elegeram como principais características a expressiva atividade antimicrobiana e a adequada capacidade de dissolução tecidual do hipoclorito de sódio, para reduzir ou eliminar a microbiota de canais radiculares infectados. Favorece a ampliação do canal para posterior obturação, observando a ação solvente orgânico e de gorduras, degradando ácidos graxos pelo processo de saponificação, neutralização de aminoácidos formando água e sal, reação de cloraminação que interfere no metabolismo celular, inibindo enzimas bacterianas sem oxidação irreversível. Pelo pH, reage de forma similar ao hidróxido de cálcio, interferindo na membrana citoplasmática com inibição enzimática, alteração da biossíntese do metabolismo celular e degradação fosfolipídica.

Avaliando a tolerância tecidual e a interferência no processo reparacional de feridas circulares, quando submetidas a tratamento prévio com hipoclorito de sódio a 0,5%, NUNES (2002) concluiu que a substância testada apresentou grau elevado de irritação dos tecidos envolvidos. Todas as feridas, após 28 dias, comportaram-se de igual maneira, no que tange ao desenvolvimento do processo

reparacional, totalmente reepitelizadas com presença de alguns fenômenos celulares no conjuntivo subjacente.

2.2 BACTÉRIA SELECIONADA

KAKEHASHI *et al.* (1965) testaram a influência de microrganismos sobre a polpa exposta cirurgicamente em animais germ-free e convencionais. Constataram que os animais convencionais, após oito dias de exposição pulpar, apresentavam pulpar vital somente na metade apical da raiz. A porção coronária estava preenchida por tecido pulpar necrótico e purulento, com colônias de microrganismos, abscessos periapicais e tecido inflamatório crônico na área periapical, sendo que nenhuma polpa mostrou evidência de reparo. Nos animais germ-free, nenhuma polpa desvitalizada foi encontrada, com inflamação mínima decorrente da exposição; nenhum abscesso apical foi encontrado, pontes de dentina eram evidentes aos 14 dias com formação de matriz de dentina; em todos os casos a polpa se encontrava viva e em caso de reabsorção radicular havia nova matriz óssea compensando a reabsorção.

Ao isolar e identificar bactérias de dentes intactos com polpa necrótica resultante de trauma, WITTGOW JUNIOR & LABISTON JUNIOR (1975) encontraram 32 culturas positivas de 40 amostras, sendo quatro das culturas negativas de dentes que ainda apresentaram vitalidade pulpar. Dos 40 dentes, 30 apresentaram área radiolúcida apical visível, enquanto das 32 culturas positivas, 31 apresentaram bactérias anaeróbias e 15 apresentaram bactérias facultativas.

Avaliando a incidência de *Streptococcus* em culturas de rotina de canais radiculares e para identificar *Streptococcus* anaeróbios facultativos presentes em

material de canais radiculares, MEJÁRE (1975) realizou culturas em aerobiose e anaerobiose, encontrando crescimento de culturas de *S. Sanguis*, *S. mutans* e *S. salivarius*, além de crescimento bacteriano em 56,5% culturas com uma bactéria, enquanto o *Streptococco* anaeróbio facultativo foi encontrado em 64,1% das culturas positivas, ocorrendo a presença de *S. sanguis*, *S. mitior*, *S. milleri*, *S. mutans*, *S. salivarius*. Encontrou também *Enterococcus (Streptococcus) faecalis*, *S. faecium*.

Ao comparar o efeito antibacteriano da limpeza biomecânica do canal radicular com solução salina estéril e hipoclorito de sódio a 0,5% e 5% em incisivos superiores com necrose pulpar, com coleta de amostras para cultura aeróbica e anaeróbica, CVEK *et al.* (1976) constataram que 22 microrganismos diferentes foram identificados nas culturas, dentre estas, *Streptococcus faecalis*. Constataram, ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos do hipoclorito de sódio a 0,5% e 5%, quanto ao efeito antibacteriano.

Ao estudarem a relação entre tecido pulpar e periapical necrosado não-infectado com o tecido pulpar necrosado não-infectado, MÖLLER *et al.* (1981), ao deixaram dentes selados imediatamente após a exposição pulpar, por seis a sete meses, sem exposição à microflora oral e outro grupo de dentes com o canal permanecendo aberto, deixando, apenas uma bolinha de algodão na câmara pulpar, com o canal aberto para infecção, por seis a sete dias, sendo posteriormente selado por seis a sete meses. Nos dentes não infectados constataram que nenhum apresentou presença de bactérias nas culturas iniciais e finais, nenhuma presença de reação inflamatória clínica e radiograficamente e histologicamente houve presença de tecido conjuntivo e ausência de reabsorção óssea e cementária. Já nos dentes infectados verificaram que todos apresentaram cultura positiva com a presença de 8 a 15 tipos de bactérias diferentes, com presença especialmente de

anaeróbios facultativos, sendo *Enterococcus faecalis* a bactéria mais prevalente, das anaeróbias estritas *Eubacterium*, *Propionibacterium* e *Bacteroides* se mostraram mais presentes que a facultativa. Ao exame radiográfico, 47 dentes apresentaram radiolucência apical, enquanto que ao exame histológico apresentaram reabsorções do osso adjacente, às vezes, também da raiz.

Avaliando o efeito de dissolução nas propriedades antibacterianas do hipoclorito de sódio, HARRISON & HAND (1981) usaram um crescimento turvo de *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* em TSB (*Trypticase soy broth*) para testar a solução de hipoclorito de sódio a 5,25%, 2,5%, 1%, 0,5%, realizando culturas. Concluíram que o hipoclorito de sódio a 0,5% somente apresentou cultura negativa no tempo de 15 minutos, enquanto o hipoclorito de sódio a 1% apresentou cultura negativa nos tempos de 5 e 15 minutos e o hipoclorito de sódio a 2,5% apresentou cultura negativa nos tempos de 2, 5 e 15 minutos. O hipoclorito de sódio a 5,25 % apresentou cultura negativa a partir de 45 segundos, mantendo-se desta forma até 15 minutos.

BYSTRÖM & SUNDQVIST (1981) verificaram mudanças no status bacteriano de canais radiculares de dentes sem vitalidade pulpar durante o tratamento, não fazendo uso de substâncias antibacterianas, realizando coleta de amostra para cultura, após o início da instrumentação do canal. Concluíram que microrganismos foram encontrados em todas as culturas iniciais, com 89 diferentes bactérias sendo 1 a 10 por canal e 88% das espécies bacterianas eram anaeróbias, sendo a mais encontrada *Peptostreptococcus micros*. As bactérias foram encontradas ao final da primeira sessão em todos os casos, e em três casos as bactérias presentes ao final da primeira sessão não foram encontradas no início da

segunda sessão, ao passo que em sete casos as bactérias se mostraram presentes após cinco sessões.

Investigando a invasão da parede dentinária pulpar por bactérias pulpares isoladas, AKPATA & BLECHMAN (1982) inocularam duas bactérias anaeróbias – *Bacteróides melaninogenicus* e *Peptostreptococcus asaccharolyticus* – e duas facultativas – *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* e constataram que a invasão bacteriana das paredes dentinárias pulpares em dentes cujos canais foram preparados in vitro depende do tempo de incubação. A dentina foi invadida por microrganismos facultativos, sendo em maior número os *Streptococcus (Enterococcus) faecalis*, sendo a maior invasão no terço cervical, seguida pelo terço médio.

A distribuição de diferentes espécies microbianas em culturas de canais radiculares infectados autogenamente de microrganismos orais foi analisada por FABRICIUS *et al.* (1982), que coletaram amostras para cultura inicial em dentes após sete dias de selamento, e cultura final após 90, 180 e 1060 dias de selamento, de três diferentes partes do canal radicular. Concluíram que as bactérias mais freqüentemente encontradas eram anaeróbias (85 a 98%), enquanto que uma proporção menor de bactérias facultativas do grupo *Estreptococo* e *Enterococo* foram encontradas.

OGUNTEBI *et al.* (1982) estudaram a microflora de abscessos periapicais de dentes de 10 pacientes de 25 a 60 anos de idade e realizaram cultura em anaerobiose, microaerofilia e atmosfera aeróbica a 37°C por sete dias. Procederam à identificação das culturas e concluíram que 25 espécies bacterianas foram encontradas, sendo 10 cocos anaeróbios facultativos gram-positivos, três cocos anaeróbios gram-positivos, nove espirilos anaeróbios gram-negativos e três espirilos

gram-positivos facultativos, enquanto somente um abscesso apresentava microflora estritamente anaeróbia.

WILLIAMS *et al.* (1983), ao avaliarem a complexidade da flora bacteriana de abscessos agudos de presumível origem endodôntica por identificação e enumeração de espécies predominantes, obtiveram cultura anaeróbia em nove dos 10 abscessos, sendo seis anaeróbias estritas, com 70% das bactérias anaeróbias e as bactérias anaeróbias facultativas eram 5,6% das bactérias das culturas.

A relação entre o curso clínico e achados microbiológicos de infecções orofaciais agudas de origem odontogênica foi investigada por HEIMDAHL *et al.* (1985). Encontraram elevado índice de bactérias aeróbias, sendo que a flora mista foi similar à anaeróbia.

A primeira descrição de *Streptococcus*, Grupo *Enterococcus* foi feita por MATUSOW (1986), ao isolar bactérias específicas e fatores etiológicos em exacerbação aguda de flegmão e verificou a ocorrência de *Bacteróides melaninogenicus*. Ao todo encontrou 47 bactérias diferentes, sendo 82,4% de culturas puras e, as demais, culturas mistas. Além disso, 87,2% eram Gram Positivos.

RAMACHANDRAN NAIR (1987) estudou a flora endodôntica e periapical de dentes humanos doentes com microscopia eletrônica e concluiu que as lesões apresentaram flora bacteriana mista, sendo na maioria dos casos restrita no canal radicular. A flora era composta de cocos, espirilos e formas filamentosas, na maioria das vezes suspensos na luz do canal e, menos freqüentemente, densa agregação de bactérias podia ser observada na parede de dentina do canal radicular. Os espaços interbacterianos revelaram material amorfo, principalmente no centro da

agregação e a flora endodôntica freqüentemente era vista contra uma densa parede de polimorfonucleares neutrófilos.

Avaliando o tratamento endodôntico de dentes despulpados infectados, BYSTRÖM *et al.* (1987) verificaram que todos os dentes apresentavam bactérias no início do tratamento, assim como lesão radiográfica visível. Em 84% dos casos houve desaparecimento da lesão e em 9% dos casos a lesão diminuiu (sem, contudo, desaparecer em dois anos), em 4% casos houve discreta redução da lesão e nos últimos 4%, realizaram tratamento cirúrgico.

Ao desenvolverem um modelo *in vitro* para infecção de túbulos dentinários que permite testar a eficácia de medicações de canal radicular, HAAPASALO & ORSTAVIK (1987) colocaram meio de cultura no canal e usaram *Enterococcus faecalis* para o teste, para causar infecção dos túbulos dentinários, por 28 dias. Constataram que bactérias invadiram os túbulos dentinários e a desinfecção com os medicamentos testados, após um dia ou sete dias era completa com PMCC (*paramonoclorofenol canforado*), ao passo que o hidróxido de cálcio fracassou como agente de desinfecção da bactéria testada.

KOBAYASHI *et al.* (1990) analisaram a flora bacteriana sub-gengival e intracanal em dentes desvitalizados com periodontite avançada e notaram que ocorreu semelhança entre as espécies bacterianas presentes nos canais radiculares e nas bolsas periodontais. Nestas houve presença maior de microrganismos facultativos do que nos canais radiculares e das 41 espécies bacterianas anaeróbias, 16 delas eram comuns em bolsas e canais e dentre os microrganismos facultativos, os cocos Gram positivos se encontravam em situação similar nas bolsas periodontais e nos canais radiculares.

Ao estudarem o efeito de irrigantes endodônticos e materiais de curativo de demora sobre bactérias em dentina bovina infectada com *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, ORSTAVIK & HAAPASALO (1990) concluíram que o *Enterococcus faecalis* preencheu toda a extensão dos túbulos dentinários em dois dias, ao passo que o *S. sanguis* e *E. coli* levaram 14 dias, e *P. aeruginosa*, três dias. O *E. faecalis* permaneceu viável após sete dias da remoção do meio de cultura e a solução de hipoclorito de sódio a 5,25% somente se mostrou eficaz para reduzir o *S. sanguis*.

Identificando bactérias que infectavam os 5 mm apicais de canais radiculares de dentes com lesão cariosa coronária e lesão inflamatória periapical associada com canal radicular infectado, BAUMGARTNER & FALKLER JUNIOR (1991) concluíram que a presença de bactérias produtoras de pigmento negro estavam presentes em 5 casos e os microorganismos mais freqüentes foram *Actinomyces species*, *Lactobacillus*, Bacteróides produtores de pigmento negro, *Peptostreptococcus*, *Veillonella parvula*, *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *S. mutans* e que das bactérias isoladas, 68% eram estritamente anaeróbias.

WAYMAN *et al.* (1992) examinaram 58 ápices de dentes que apresentavam lesão apical remanescente após tratamento convencional, que necessitavam de cirurgia parendodôntica e verificaram que ocorreram um total de 83 bactérias isoladas. Dessas 56 eram anaeróbias, 18 eram facultativas e nove eram aeróbias e em 51 casos houve presença de uma ou mais bactérias.

SUNDQVIST (1992a) estudou os diferentes tipos de microrganismos para caracterizar a flora do canal radicular de dentes com lesões periapicais, de acordo com as espécies bacterianas e a freqüência de ocorrência e análise da associação

entre estas bactérias. Constatou que todos os canais apresentavam presença de bactérias, sendo um total de 353 espécies bacterianas e o número médio de espécies foi de 5,4 por canal. O *Fusobacterium nucleatum* estava presente em 48% dos canais. Houve associação positiva entre *F. nucleatum* com *P. micros*, *P. endodontalis*, *Selenomonas sputigena* e *Wolinella sp*, também entre *P. intermedia* com *P. micros*, *P. anaerobius* e *Eubactéria*. Não houve associação, ou esta foi negativa entre *Streptococcus sp*, *Propionibacterium propionicus*, *Capnocytophaga ochracea* e *Veillonella parvula*.

SUNDQVIST (1992b), em revisão de literatura, descreve a flora encontrada no interior dos canais radiculares, sendo a maioria também encontrada em bolsas periodontais, porém a flora do canal radicular não é tão complexa quanto à flora gengival. O número de espécies bacterianas no canal variou de um a 12. As bactérias anaeróbias facultativas estavam presentes em maiores proporções que as bactérias anaeróbias, sendo que o ambiente endodôntico é seletivo para o desenvolvimento de proporções específicas da microflora anaeróbia. A limitação de substrato e o aumento de produtos metabólicos e produtos inibidores de crescimento, no canal radicular, originam a comunidade diversa de utilizadores de nutrientes primários e secundários com a variedade de interações bacterianas. O tratamento endodôntico interfere dramaticamente neste sistema, quebrando a anaerobiose com a abertura do canal e o tratamento bio-mecânico elimina bactérias, bem como priva o canal de nutrientes e interfere nas associações bacterianas. Entretanto o selamento do canal restabelece a anaerobiose e o influxo de fluido tecidual pode dar suporte ao re-crescimento de bactérias. Isto tem sido demonstrado, pois bactérias anaeróbias que sobreviveram ao tratamento bio-mecânico multiplicaram-se a alto número no canal entre sessões, se não havia

curativo de demora em seu interior. Isto quer dizer que o canal deve ser completamente limpo, na primeira sessão, enquanto a bactéria é vulnerável à erradicação e deixar um curativo de demora que elimine eventual bactéria que tenha sobrevivido a tratamento bio-mecânico. Do contrário algumas bactérias como *Enterococcus faecalis*, que é mais resistente ao tratamento, mas que é de percentual mínimo na microflora da infecção original, será favorecido pela troca da ecologia do canal e estabelecer uma infecção que é difícil de tratar.

Descrevendo as bactérias presentes em canais radiculares infectados, onde existem condições que permitem o crescimento de bactérias anaeróbias capazes de fermentar aminoácidos e peptídeos, restritas pela ausência de nutrientes disponíveis, segundo SUNDQVIST (1994), o curso da infecção e inter-relações desenvolvidas entre espécies bacterianas são produzidas com resultado de interações. Fortes associações entre certas espécies presentes e a patogenicidade da flora polimicrobiana do canal radicular é dependente do sinergismo bacteriano.

Também em revisão bibliográfica, SELTZER & FARBER (1994) analisaram os fatores que interferem na infecção periapical e nos mecanismos de sobrevivência dos patógenos, assim como infecção sintomática do canal radicular. Descrevem que a invasão bacteriana na polpa já ocorre antes da exposição pulpar pela cárie, incluindo-se alterações significativas na flora microbiana na lesão, passando a ser colonizado especialmente por bactérias anaeróbias e facultativas, a partir da exposição pulpar. Além disso, ocorre similaridade da microflora das lesões pulpares e doença periodontal, onde vários fatores têm sido implicados na sobrevivência dos microrganismos nos tecidos, tais como; adesão bacteriana, carboidratos e proteínas, encapsulamento de bactérias, mudanças induzidas nos neutrófilos, resistência à fagocitose, desenvolvimento de resistência das bactérias,

entre outras. Concluem que o desenvolvimento de técnicas de cultura anaeróbia elucidou a formação das paredes celulares das bactérias, bem com as endotoxinas e o ácido lipoteicoico em lesões inflamatórias periapicais tem sido esclarecida.

Ao estudarem se algum grupo específico de bactérias estava associado com dor ou com outros sinais e sintomas endodônticos, GOMES *et al.* (1994) realizaram coleta de amostras para cultura durante o tratamento endodôntico e encontraram 57 de diferentes espécies bacterianas, sendo que anaeróbios estritos foram encontrados em 60% dos casos.

WEIGER *et al.* (1995) analisaram a flora microbiana de lesões perirradiculares com concomitante envolvimento do trato fistuloso e a compararam com a flora do canal radicular infectado em dentes não tratados endodonticamente. Constataram que todas as culturas resultaram positivas, ocorrendo crescimento bacteriano e 96 colônias bacterianas foram encontradas nos canais radiculares e 76 nos tratos fistulosos, sendo que houve certa semelhança nas bactérias encontradas em culturas do trato fistuloso e do canal radicular.

Investigando a topografia da flora microbiana de canais radiculares infectados e o grau de penetração bacteriana nos túbulos dentinários de raízes infectadas por MEV, SEN *et al.* (1995) clivaram as raízes distais dos molares inferiores e palatinas dos molares superiores. Concluíram que os canais radiculares se encontravam levemente infectados em todas as áreas do canal e a penetração de bactérias nos túbulos dentinários foi, em média, de 50 micras, mas a maior era acima de 150 micras, no terço apical. Microcavidades foram encontradas nos túbulos dentinários e na dentina intertubular, sendo as principais formas encontradas foram de cocos e bastonetes, nos canais radiculares.

Realizando uma revisão da literatura sobre relevância e consequência da bactéria ou produtos bacterianos remanescentes em túbulos dentinários e discutir a necessidade clínica de tomar medidas para erradicar as bactérias, PETERS *et al.* (1995) relataram à presença de bactérias e seus produtos na dentina radicular, podendo a invasão dos túbulos ser retardada ou prevenida pela presença de smear layer. Citaram ainda o fato da bactéria, em estudos *in vitro*, não sobreviver à falta de nutrientes, o que não ocorre em estudos *in vivo*, onde existe o suprimento de nutrientes via túbulos dentinários. Assim, para evitar o repovoamento bacteriano do canal, recomendam o uso de medicação intracanal entre sessões. Concluem que o fracasso da terapia endodôntica parece estar vinculado à presença de bactérias remanescentes nos túbulos dentinários após preparo e obturação do canal e que há evidência de medidas de suporte para erradicar a bactéria deixada nos túbulos dentinários.

Ao examinarem se a infecção aguda do sistema de canal radicular ou tecido periapical estava ligada com alguma bactéria em particular, BRAUNER & CONRADS (1995) realizaram culturas de 43 dentes com sintomas de pulpíte. Concluíram que todos os dentes apresentaram flora mista de bactérias anaeróbias estritas e facultativas, sendo que culturas puras não estavam presentes.

Ao identificarem bactéria associada com mudanças patológicas na polpa dental e no periápice, BAUMGARTNER *et al.* (1996) procederam a coleta de amostras para culturas em dentes intactos associados com rarefação periapical e isolaram 348 espécies bacterianas, sendo que 288 (83%) eram anaeróbias, com um a 15 espécies por amostra.

BROOK *et al.* (1996) descreveram a microbiologia de abscessos e a sinusite maxilar correspondente aspirando seu conteúdo e processando culturas

aeróbias e anaeróbias, ocorrendo crescimento bacteriano em todos os casos e concluíram que flora polimicrobiana foi encontrada em todos os casos, variando de dois a cinco microrganismos por lesão (sinusite e abscesso). Bactérias anaeróbias foram isoladas em todos os casos de abscesso e sinusite e ocorreu semelhança nos achados microbiológicos entre abscessos e sinusites em todos os casos.

SIQUEIRA JUNIOR *et al.* (1996) investigaram a penetração de bactérias anaeróbias selecionadas comumente isoladas de infecções de canais radiculares e associadas com patologia endodôntica em túbulos dentinários, usando MEV. Concluíram que todos os microrganismos penetraram nos túbulos dentinários, em diferentes profundidades, sendo que *Propionibacterium acnes*, *Enterococcus faecalis* e *Actinomyces israelii* infectaram maciçamente os túbulos dentinários. Com *Porphyromonas gingivalis* ocorreu pouca invasão de túbulos dentinários, porém com profundidade, e *Porphyromonas endodontalis* com pouca profundidade, enquanto *Fusobacterium nucleatum* formou feixes nas entradas dos túbulos dentinários.

A suscetibilidade ao procedimento biomecânico de espécies bacterianas individuais do canal radicular foi investigada por GOMES *et al.* (1996). Encontraram 51 espécies bacterianas diferentes, em cultura inicial, com variações dos tipos bacterianos de um a nove, por canal. Foram encontrados anaeróbios estritos em 31 canais e facultativos em 29, ao passo que foram encontradas espécies gram-negativas em 63% dos casos e gram-positivas em 45% dos casos. O estudo confirmou a suscetibilidade de bactérias específicas ao procedimento biomecânico no canal radicular, com redução significativa da flora bacteriana do canal radicular, em nova cultura.

Em revisão bibliográfica RAMACHANDRAN NAIR (1997) analisou a flora de infecções endodônticas e de lesões periapicais, concluindo que a periodontite

apical é consequência da infecção do canal radicular, por isso a similaridade da flora entre as lesões e que os microrganismos presentes são, invariavelmente, anaeróbios estritos ou anaeróbios facultativos, dentre eles *Enterococcus faecalis*.

Investigando a relação entre procedimentos clínicos do tratamento e ocorrência de bactéria facultativa entérica em infecções de canal radicular, SIREN *et al.* (1997) constataram que a bactéria entérica de maior presença foi *Enterococcus faecalis*, com 33% dos casos em monoinfecção, sendo as demais *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoga*, *Actinobacter sp.* e *Pseudomonas aeruginosa*, geralmente encontradas com *Streptococcus sp.*, *Fusobacterium nucleatum* e *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens*.

SIQUEIRA JUNIOR *et al.* (1997) compararam a efetividade do hipoclorito de sódio a 4%, usado com três métodos de irrigação, na eliminação de *Enterococcus faecalis* do canal radicular e não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais com culturas positivas em torno de 10% por cada grupo.

O índice de sucesso do retratamento e os fatores que influenciam o prognóstico foram os objetivos de SUNDQVIST *et al.* (1998), que, além de obter dados da composição da flora microbiana em dentes com canais obturados com lesões periapicais persistentes por meio de cultura anaeróbia, com curativos de hidróxido de cálcio por sete a 14 dias. Constataram que 48% dos casos houve crescimento bacteriano, sendo 38% de uma só espécie e 8% de duas espécies e 1 caso de infecção polimicrobiana, enquanto que *Enterococcus faecalis* foi à bactéria de maior prevalência, sendo presente em 20% dos casos.

Bactérias prevalentes em infecções endodônticas humanas (*Porphyromonas endodontalis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Eubacterium lentum*,

Fusobacterium nucleatum, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*) foram colonizadas em canais radiculares de dentes de ratos convencionais e germ-free por RIBEIRO SOBRINHO *et al.* (1998). Constataram que *P. anaerobius*, *E. coli* e *E. faecalis* são capazes de colonizar o canal em monoinfecção, enquanto *P. endodontalis* e *F. nucleatum* não foram capazes de infectar os canais em monocontaminação. Com *P. anaerobius* e *F. nucleatum* encontraram antagonismo, ao passo que, nos demais, não ocorreu antagonismo.

Ao investigarem a composição bacteriana de periapicopatias agudas, identificando os microrganismos encontrados nos canais radiculares necróticos, LUISI *et al.* (2000) constataram que ocorreu a presença de algumas bactérias potencialmente patogênicas em periapicopatias agudas, como *Peptostreptococcus* sp., *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus* sp. Grupo viridans e *Enterococcus faecalis*. Selecionaram bactérias anaeróbias em 25% dos casos e 8% de cultura mista.

HANCOK *et al.* (2001) investigaram a composição da flora microbiana em tratamentos de canal fracassados com o uso de técnica de cultura anaeróbica. Concluíram que bactérias são cultiváveis em valores similares aos estudos escandinavos e a maioria dos canais com insucesso no tratamento endodôntico apresentaram de uma a três bactérias, enquanto que o principal microrganismo encontrado foi *Enterococcus faecalis*, presente em 30% dos casos.

Examinando a diversidade de espécies bacterianas em canais radiculares infectados em dentes com periodontite perirradicular associada, ROLPH *et al.* (2001) verificaram que as espécies bacterianas procedentes das culturas foram idênticas às encontradas por outros autores, usando a mesma técnica. As bactérias encontradas nos casos de polpa necrosada eram diferentes dos casos de insucesso de

tratamento anterior e que os testes de extração de DNA mostraram que as bactérias encontradas nos casos de polpa necrosada foram diferentes dos casos de insucesso de tratamento anterior.

LOVE (2001) identificou o mecanismo para explicar porque bactérias de *Enterococcus faecalis* podem sobreviver dentro dos túbulos dentinários e manter o potencial de penetrar túbulos dentinários, realizando culturas de *E. faecalis*, *Streptococcus gordonii* e *Streptococcus mutans*, em atmosfera reduzida de Oxigênio. Concluiu que o crescimento bacteriano foi evidente após 24 horas, com invasão bacteriana maciça nas três espécies após 14 dias e a limitação até a imobilização das bactérias foi possível com adição de colágeno. Enquanto que o colágeno fresco inibiu a adesão das espécies bacterianas, o soro fisiológico inibiu a adesão do *S. mutans* e *S. gordonii* e aumentou a adesão do *E. faecalis*.

PECIULIENE *et al.* (2001) determinaram a ocorrência de fungos, bastonetes entéricos gram-negativos e enterococos em canais obturados com periodontite apical crônica. Verificaram que microrganismos foram isolados em 82,5% dos casos selecionados e ocorreu a presença de fungos em 18% dos dentes, sempre com presença de outras bactérias, enquanto que *Enterococcus faecalis* estavam presentes em 52,5% dos dentes selecionados e que somente foi encontrado *Enterococcus faecalis*, da espécie enterococo, sendo em 10 casos de cultura mista e em 11 casos de cultura isolada.

Ao avaliarem a prevalência de *Actinomyces spp*, *Streptococcus* e *Enterococcus faecalis* em canais radiculares, primariamente infectados, SIQUEIRA JÚNIOR *et al.* (2002) constataram que todos os canais estudados continham bactérias, sendo que *Actinomyces spp* estava presente em 9,4% das amostras, *Streptococcus* em 22,6% e *Enterococcus faecalis* em 7,5%. Nos casos de abscesso

Os dentes, após a coleta de amostras para cultura imediata, foram inoculados com duas gotas de meio de cultura BHI e mantidos por 24 horas em estufa a 37°C, para então realizar nova coleta de amostras para cultura em BHI e em Agar Sangue (cultura mediata), que, igualmente foram mantidos em estufa a 37°C, por 24 horas para fazer a leitura dos resultados, retornando à estufa por mais 24 horas, com nova leitura dos resultados, obtendo-se assim, uma leitura de 24 horas e uma leitura de 48 horas.

A análise do crescimento bacteriano foi realizada visualmente por três observadores, onde se constatou a turbidez do meio BHI (FIG. 4), ou as colônias do meio Agar sangue (FIG. 5).

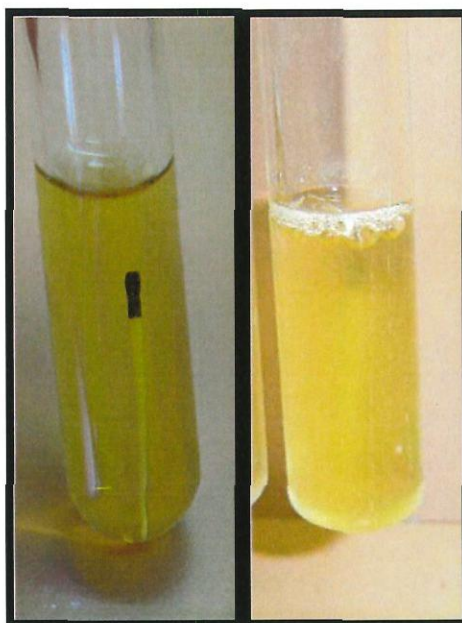


FIGURA 4 - A análise do crescimento bacteriano pela turbidez do meio BH

apical agudo, a presença de *Actinomyces spp* foi de 18,5%, *Streptococcus* foi 33,3% e *Enterococcus faecalis*, 3,7%.

SUNDE *et al.* (2002) identificaram a flora microbiana de lesões refratárias de origem endodôntica, com tratamento endodôntico em ótimas condições e observadas por longo tempo clínica e radiograficamente. Encontraram um total de 148 bactérias diferentes, sendo 51% anaeróbias estritas com uma a 11 espécies por cada caso.

Avaliando o efeito antimicrobiano de hidróxido de cálcio e preparo comercial de gluconato de clorhexidina, só e combinado hidróxido de cálcio, em várias profundidades de canalículos dentinários de dentes bovinos, infectados com *Enterococcus faecalis*, LYNNE *et al.* (2003) colocaram meio de cultura no interior de cilindros. Lavaram os mesmos e os submeteram à medicação determinada. Concluíram que *Enterococcus faecalis* estava presente em todas as profundidades de dentina, decrescendo de acordo com a distância da luz do canal e que o menor índice de bactérias se encontrou onde foi usada a medicação de hidróxido de cálcio a 10%.

Ao estabelecer a sobrevivência à falta de nutrição de *Enterococcus faecalis*, caracterizando vários fatores que afetam sobrevivência de bactérias com falta de nutrição durante prolongado período de incubação e determinar a capacidade dessa bactéria de recuperar-se de inanição em presença de soro humano, FIGDOR *et al.* (2003) usaram meio limitado de glicose e fosfato preparado com diminuição de glicose de 1% a 0,1%, e a concentração de fosfato de 0,18 M (Mol) a 36 nM. Enquanto culturas de *E. faecalis* cresceram em aerobiose por 24 horas, sendo levadas para o meio limitado em fosfato e glicose, incubando umas por 21 dias e outras por 4 meses. Soro humano foi usado como meio para cultura de

bactérias com falta de nutrição e bactérias de sete dias com falta de nutrição foram recuperadas misturando soro no meio de cultura limitado. Bactérias viáveis foram encontradas após quatro meses de cultura em meio limitado comparáveis, em número às iniciais.

MÖLLER *et al.* (2004) estudaram a sobrevivência de algumas bactérias selecionadas inoculadas em canais radiculares em macacos, a influência radiograficamente observada no tecido periapical durante oito a 12 meses e a resistência dessas bactérias ao preparo químico-mecânico do tratamento endodôntico realizado em duas etapas diferentes. Para tanto se valeram de oito macacas de seis anos, com dentição completa e intacta no início do estudo. Nestas usaram um total de 186 raízes de 178 dentes, onde realizaram cavidade de acesso, desvitalizaram os dentes e inocularam quatro a cinco espécies bacterianas em cada canal. Oito a 12 meses mais tarde, realizaram a primeira sessão do tratamento endodôntico usando hipoclorito de sódio a 1%, seguido de Peróxido de hidrogênio a 10%. Inocularam *S. milleri*, *P. anaerobius*, *P. oralis* e *F. nucleatum* em 162 canais radiculares, e *E. faecalis* em 24 e concluíram que na inoculação das 5 bactérias ocorreu crescimento bacteriano após completo preparo do canal em 54% das culturas, sendo que onde houve inoculação de *E. faecalis* somente em um caso a bactéria foi encontrada isolada, nos demais estava associada com espécies anaeróbias.

A toxicidade das soluções de hipoclorito de sódio usadas em Endodontia mostra-se clara na revisão da literatura, sendo diretamente proporcional à sua concentração, ao passo que a eficácia das mesmas parece ser inversamente proporcional à sua concentração, porém, ainda pairam dúvidas quando associamos o Líquido de Dakin ao Endo PTC.

3. PROPOSIÇÃO

Diante do exposto, este estudo teve o objetivo de avaliar a capacidade da soda clorada (hipoclorito de sódio 5,25%) e do líquido de Dakin (hipoclorito de sódio 0,5%) associado ao Endo PTC na remoção e/ou inativação de *Enterococcus faecalis* do interior de canais radiculares contaminados in vitro, realizando cultura imediatamente após o preparo radicular e 24 horas após o preparo, comparando a eficácia destas substâncias químicas auxiliares do preparo de canais em Endodontia.

4. MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo foi utilizado material e método próprio para a avaliação da limpeza propiciada pelo uso de substâncias químicas auxiliares, nos canais radiculares infectados in vitro por bactéria selecionada.

4.1 MATERIAL:

- Autoclave BIO ENG® modelo A12 vertical (Bio Eng, São Paulo, SP);
- Bactérias *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212 - Fundação Osvaldo Cruz – Instituto Osvaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ);
- Brocas de Gates-Glidden nº. 1, 2, 3 e 4 (Dentsply Maillefer®, Ballaigues, Suíça);
- Brocas diamantadas nº. 1090 e 1019 (KGSorensen® - KGSorensen Ind. e Com. Ltda-Barueri, SP);
- Cânulas metálicas para aspiração BD (Becton Dickinson, Curitiba, Pr). Computador iBuddie®, com disco rígido de 10 Gb e 512Mb de memória RAM;
- Creme Endo PTC – (Peróxido de Uréia - 10%; Carbowax - 75%; Tween 80 - 15%) - pote com 10 g (Fórmula & Ação - Farmácia de Manipulação-São Paulo, SP);
- Estufa para manutenção da temperatura a 37°C (Olidef® Ribeirão Preto, SP);
- Gesso Pedra (Chaves S. A. Min. Ind. Fortaleza, Ce);

- Incisivos centrais superiores (34), obtidos do banco de dentes humanos - divisão de permanentes – do Centro de Pesquisas Odontológicas São Leopoldo Mandic.
- Limas de uso endodôntico tipo K no. 15 a 40 e 45 a 80 (Dentsply Maillefer®, Ballaigues, Suíça);
- Líquido de Dakin - (Fórmula & Ação - Farmácia de Manipulação-São Paulo, SP);
- Máquina fotográfica digital Sony® DSC-P10;
- Meio de cultura Agar (Agar - Meio de Cultura Biobrás - Montes Claros, MG);
- Meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion - Meio de Cultura Biobrás - Montes Claros, MG);
- Placas de Petry com 10 cm de diâmetro X 1,5 cm de altura (Centerlab - Porto Alegre, RS);
- Pontas de papel absorvente de uso endodôntico Tanari® - (Tanariman Industrial Ltda - Manacapuru, Am);
- Resina epóxi (Araldite® - Brascola-São Bernardo do Campo, SP);
- Seringa de vidro de 20 ml Omega® (Ibras-CBO, Campinas, SP);
- Seringa descartável de 5 ml(mililitros) Embramac (Laboratório Rymco, Barranquilla, Colômbia).
- Seringa descartável de insulina BD ultra-fine (Becton Dickinson, Curitiba, Pr);

- Soda Clorada - (Fórmula & Ação - Farmácia de Manipulação-São Paulo, SP);
- Software GMC (Prof. Geraldo Maia Campos) para análise estatística;
- Solução de Milton - (Fórmula & Ação - Farmácia de Manipulação-São Paulo, SP);
- Soro fisiológico (LBS® - LBS Laborasa Ind. Farm. Ltda-São Paulo, SP);
- Tiosulfato de sódio a 5% - (Fórmula & Ação - Farmácia de Manipulação - São Paulo, SP);
- Tubos de ensaio com 10 cm de altura X 1cm de diâmetro (Centerlab - Porto Alegre, RS);

4.2 MÉTODOS

A sequência da metodologia utilizada para a realização desta pesquisa foi determinada esquematicamente, para sua melhor compreensão e descrição, pelo desenvolvimento conforme descrito a seguir.

4.2.1 Preparo dos canais

Após a confecção do acesso coronário, foram realizados a exploração e esvaziamento dos canais com o uso de uma lima nº 15. Em seguida, estes foram instrumentados manualmente até a lima 40, no comprimento de 2 mm além do ápice radicular, com o uso associado de 20ml solução de Milton, e irrigação final de 5ml de soro fisiológico. Em seguida os canais foram secos com pontas de papel absorvente.

Terminado o preparo, o ápice foi selado com a resina epóxi (Araldite®), (FIG. 1A) para que o meio de cultura pudesse permanecer no interior do canal, e os dentes foram montados em um bloco de gesso pedra para que pudessem ser manipulados durante o experimento (FIG. 1B).

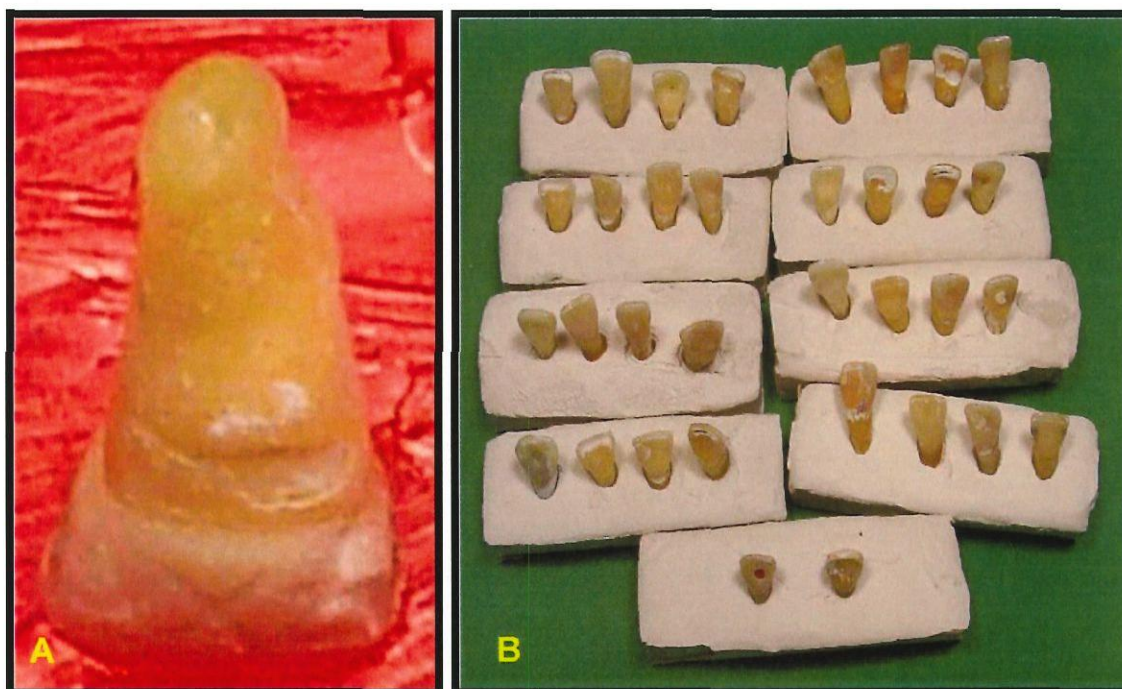


FIGURA 1 – A) O ápice do dente selado; B) Os dentes montados em bloco de gesso com a resina epóxi (Araldite®) para serem manipulados durante o experimento

Assim foram embalados e remetidos para a empresa M.I.C. da cidade de Porto Alegre-RS para onde foram esterilizados por óxido de etileno, com posterior retorno (FIG. 2), para a realização do experimento, cujo laudo microbiológico está nos anexos (ANEXO 1).

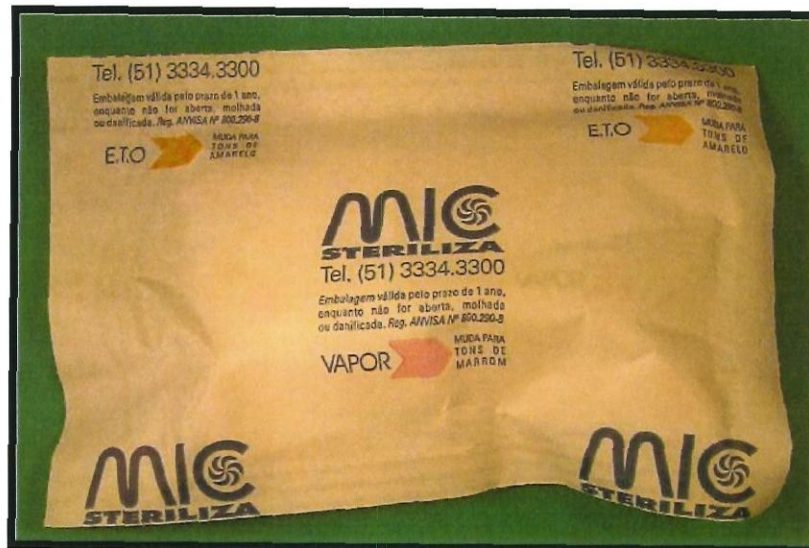


FIGURA 2 - Retorno dos dentes embalados pela empresa M.I.C. da cidade de Porto Alegre-RS, onde foram esterilizados por óxido de etileno

Foi colocado o meio de cultura BHI, previamente preparado, no interior dos canais radiculares, usando uma seringa descartável, depositando 5 gotas do meio no interior de cada dente (FIG. 3).



FIGURA 3 - O meio de cultura BHI, previamente preparado, no interior dos canais radiculares, usando uma seringa descartável, depositando cinco gotas do meio no interior de cada dente

Uma coleta de amostra para cultura comprobatória da ausência de bactérias residuais foi realizada após a colocação do meio de cultura, antes da inoculação das bactérias para a contaminação dos canais radiculares.

4.2.2 Meios de Cultura

Os meios de cultura adquiridos foram preparados de acordo com as instruções do fabricante, sendo esterilizados em autoclave, já distribuídos em tubos de ensaio, no caso do BHI, ou placa de Petry, no caso do Agar sangue.

4.2.3 Bactéria *Enterococcus faecalis*

As bactérias (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212) foram adquiridas da Fundação Osvaldo Cruz – Instituto Osvaldo Cruz, conforme pedido em anexo (ANEXO 2) sob forma liofilizada. No início do experimento foram colocados em meio de cultura para sua ressuspensão, de acordo com as instruções que as acompanhavam (ANEXO 3).

Verificado o crescimento bacteriano após 48 horas foi realizada a semeadura das mesmas no interior dos canais preenchidos com o meio BHI, mantendo os dentes em estufa a 37°C, por sete dias. Decorrido este período, procedeu-se à coleta de amostra para constatação da contaminação dos canais radiculares.

4.2.3 Grupos experimentais

Os 34 dentes foram divididos em quatro grupos, sendo dois grupos experimentais de 15 dentes e dois grupos controle, negativo e positivo.

No grupo controle negativo, não foi realizada a semeadura de bactérias, sendo mantidos apenas com o meio de cultura BHI, ao passo que no grupo controle positivo, foi realizada a semeadura de bactérias sem instrumentação, para comprovar a contaminação dos canais.

Após a constatação da contaminação, os dentes dos grupos experimentais foram preparados com brocas Gates Glidden nº 2, 3 e 4 (acorde Machado – 2002) e instrumentação manual com limas tipo K, até nº 60, a 1 mm aquém do forâmen apical e usando as limas nº 70 e 80, com recuo de 1 mm subsequente, fazendo a irrigação com, no grupo um, com Soda Clorada e, no grupo

dois, com Líquido de Dakin associado ao Endo PTC, conforme PAIVA & ANTONIAZZI (1973).

O volume de substância química auxiliar usado foi idêntico em ambos os grupos, sendo usado no grupo um, 20 ml de Soda Clorada, ao passo que no grupo dois, foi usado 19,9 ml de Líquido de Dakin e 0,1 cm³ de creme de Endo PTC.

O creme Endo PTC foi medido usando uma seringa de insulina, colocando o creme no interior da seringa e retirando apenas a porção empregada para o preparo do canal.

Concluído o preparo dos canais, os mesmos foram irrigados com 5 ml de Tiosulfato de sódio a 5%, para inativação do hipoclorito de sódio, seguindo de uma irrigação de 5ml de soro fisiológico, para a remoção da solução empregada anteriormente, estando os canais prontos para a avaliação do grau de desinfecção propiciada pelas substâncias químicas auxiliares. Esta foi realizada procedendo a uma coleta de uma amostra para cultura.

A amostra para cultura imediata foi coletada, enquanto o canal estava cheio com soro fisiológico, introduzindo um cone de papel estéril no interior do canal, agitando o conteúdo com o cone de papel para, então, removê-lo e colocar no meio de cultura. Isto foi feito de maneira repetida, para que se pudesse obter duas amostras, que foram inoculadas em tubos de ensaio contendo o meio de cultura BHI e outro conjunto de amostras que foi inoculada em placas de Petry que continham meio de cultura Agar Sangue.

Os conjuntos incubados foram mantidos em estufa a temperatura constante de 37°C, por 24 horas, quando foi feita a primeira leitura dos resultados, retornando à estufa por mais 24 horas, com a leitura final dos resultados obtidos.

Os dentes, após a coleta de amostras para cultura imediata, foram inoculados com duas gotas de meio de cultura BHI e mantidos por 24 horas em estufa a 37°C, para então realizar nova coleta de amostras para cultura em BHI e em Agar Sangue (cultura mediata), que, igualmente foram mantidos em estufa a 37°C, por 24 horas para fazer a leitura dos resultados, retornando à estufa por mais 24 horas, com nova leitura dos resultados, obtendo-se assim, uma leitura de 24 horas e uma leitura de 48 horas.

A análise do crescimento bacteriano foi realizada visualmente por três observadores, onde se constatou a turbidez do meio BHI (FIG. 4), ou as colônias do meio Agar sangue (FIG. 5).

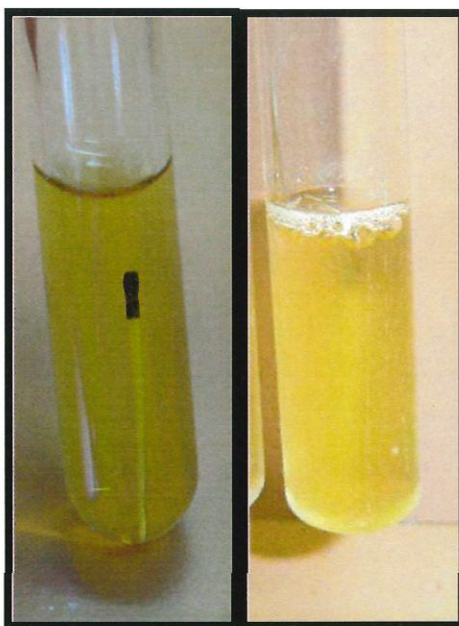


FIGURA 4 - A análise do crescimento bacteriano pela turbidez do meio BH



FIGURA 5 - A análise do crescimento bacteriano nas colônias do meio Agar sangue

A análise foi feita através de escores referentes à ausência de crescimento bacteriano, mínimo crescimento bacteriano, médio crescimento bacteriano e crescimento bacteriano intenso, para o meio BHI (FIG. 6) e para o meio Agar sangue (FIG. 7).

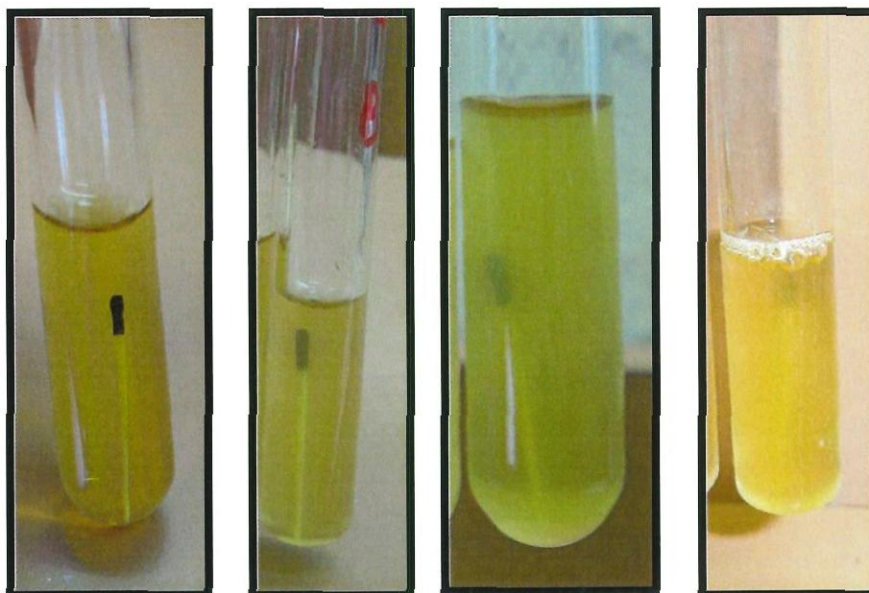


FIGURA 6 - Escores referentes à ausência de crescimento bacteriano, mínimo crescimento bacteriano, médio crescimento bacteriano e crescimento bacteriano intenso para o meio BHI



FIGURA 7 - Escores referentes à ausência de crescimento bacteriano, mínimo crescimento bacteriano, médio crescimento bacteriano e crescimento bacteriano intenso para o meio Agar sangue

5. RESULTADOS

Os resultados obtidos neste estudo, a partir da desinfecção de canais radiculares infectados com *Enterococcus faecalis*, com soda clorada ou líquido de Dakin associado ao Endo PTC, para fins de descrição, foram separados pelas culturas, imediata e mediata, pelos meios de cultura, BHI e Agar sangue, pelas substâncias químicas auxiliares utilizadas, Soda clorada e Líquido de Dakin associado ao Endo PTC, todos com o tempo de observação de 24 e 48 horas. As culturas imediatas tiveram a sua coleta imediatamente após o preparo dos canais, ao passo que as culturas mediatas foram coletadas 24 horas após o preparo. Os valores originais encontram-se expressos no (ANEXO 4).

As médias das culturas imediatas do meio de cultura BHI, de acordo com o escore de crescimento, encontram-se no gráfico a seguir (GRAF. 1).

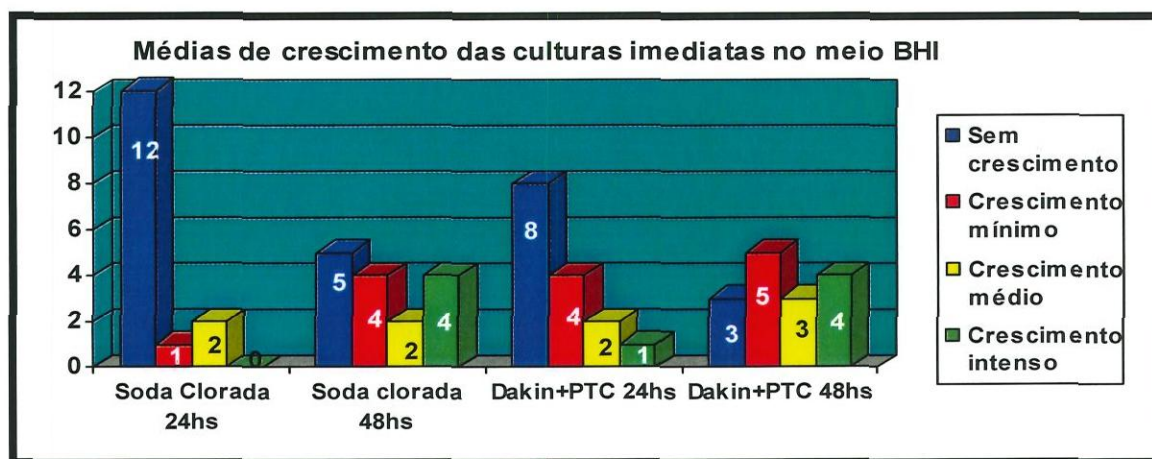


GRÁFICO 1 - Médias de crescimento bacteriano nos grupos experimentais, culturas imediatas, no meio de cultura BHI

Pode-se observar que, inicialmente não houve crescimento bacteriano em 12 dentes, ao passo que no tempo de observação de 48 horas, não houve crescimento bacteriano em cinco dentes, no grupo onde foi usado soda clorada, no preparo. Já no grupo em que foi usado líquido de Dakin associado ao Endo PTC, no tempo de observação de 24 horas havia oito dentes sem crescimento bacteriano, passando a apenas três, no tempo de 48 horas.

As médias das culturas mediatas do meio de cultura BHI, de acordo com o escore de crescimento, encontram-se no gráfico a seguir (GRAF. 2).

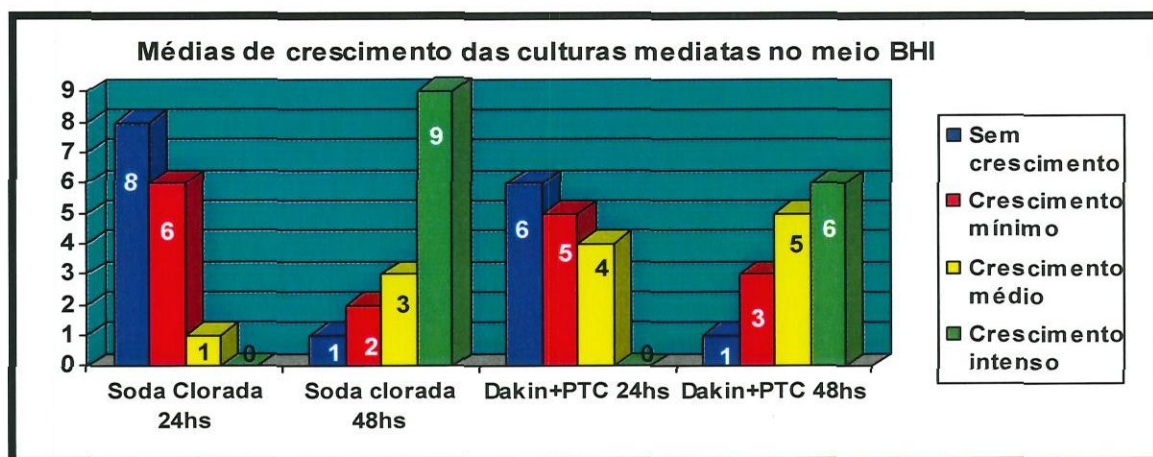


GRÁFICO 2 - Médias de crescimento bacteriano nos grupos experimentais, culturas mediatas, no meio de cultura BHI

Nas culturas mediatas diminuiu o número de culturas sem crescimento bacteriano, em relação às culturas imediatas e, aumentaram as culturas de crescimento bacteriano médio e intenso.

As médias das culturas imediatas do meio de cultura Agar sangue, de acordo com o escore de crescimento, encontram-se no gráfico a seguir (GRAF. 3).

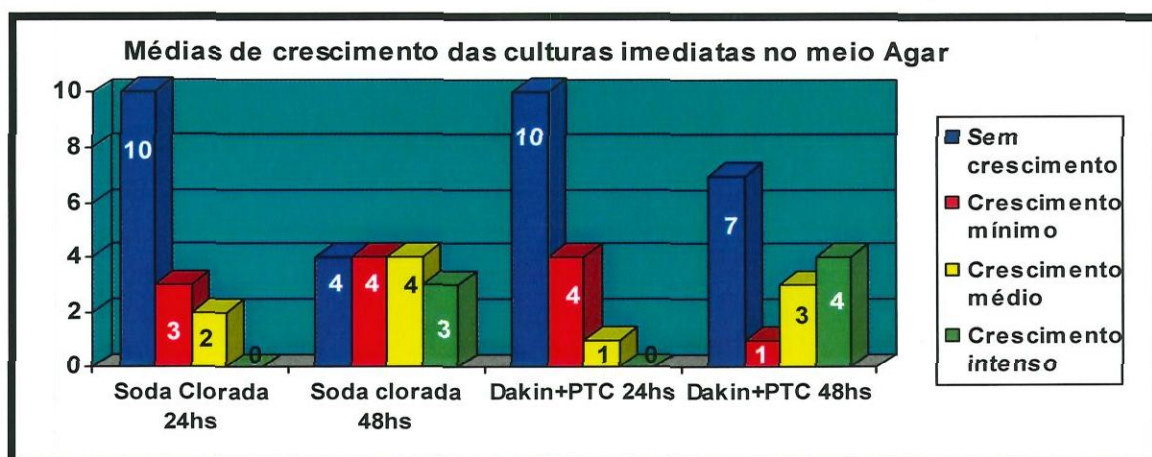


GRÁFICO 3 - Médias de crescimento bacteriano nos grupos experimentais, culturas imediatas, no meio de cultura Agar

Nas culturas imediatas do meio de cultura Agar pode-se observar que foi idêntico o número de culturas sem crescimento bacteriano, nos dois grupos de dentes, de acordo com as substâncias químicas auxiliares usadas.

As médias das culturas mediatas do meio de cultura Agar sangue, de acordo com o escore de crescimento, encontram-se no gráfico a seguir (GRAF. 4).

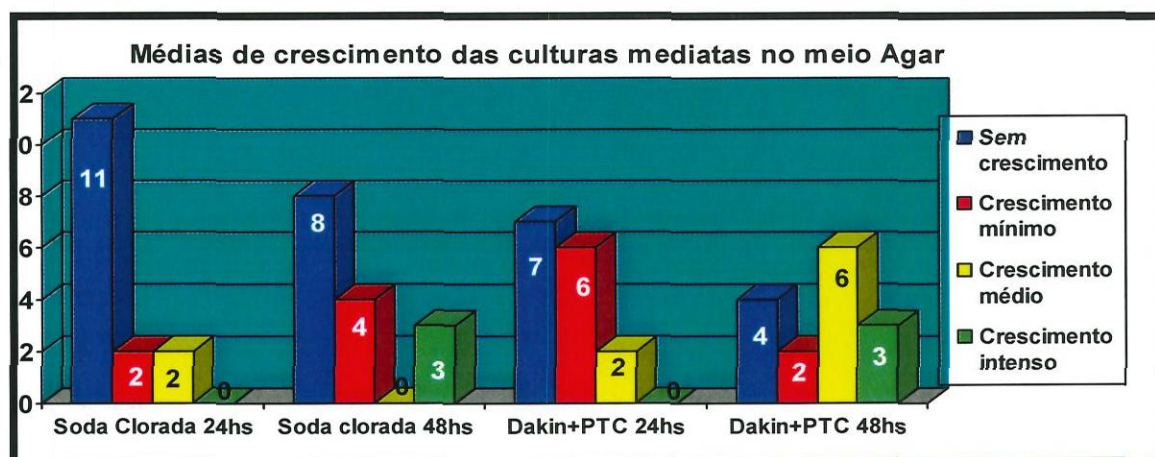


GRÁFICO 4 - Médias de crescimento bacteriano nos grupos experimentais, culturas mediatas, no meio de cultura Agar

Nas culturas mediatas do meio Agar pode-se observar que no tempo de leitura que não houve crescimento bacteriano nos dois grupos, no tempo de observação de 24 horas.

Entre as culturas imediatas, no meio de cultura BHI, ao final de 24 e 48 horas, ao fazer a análise estatística se verifica ser esta uma amostra não normal. Desta forma foi executado o teste de Kruskal-Wallis que mostrou valores de h iguais a 4.8814 com valor do X^2 para 3 graus de liberdade: 4.88, com a probabilidade de H_0 para esse valor 18.07%, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). A comparação entre os postos das médias mostrou não haver significância, conforme a TAB. 1.

TABELA 1 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas, no meio de cultura BHI, nos tempos de 24 e 48hs de leitura

Amostras comparadas Comparações duas a duas	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
BHI im. Soda 24hs X BHI im. Soda 48 hs	3.6250	7.6411	10.7129	15.1419	n/s
BHI im. Soda 24hs X BHI im. PTC 24 hs	1.0000	7.6411	10.7129	15.1419	n/s
BHI im. Soda 24hs X BHI im. PTC 48 hs	3.3750	7.6411	10.7129	15.1419	n/s
BHI im. Soda 48hs X BHI im. PTC 24 hs	2.6250	7.6411	10.7129	15.1419	n/s
BHI im. soda 48hs X BHI im. PTC 48 hs	0.2500	7.6411	10.7129	15.1419	n/s
BHI im. PTC 24hs X BHI im. PTC 48 hs	2.3750	7.6411	10.7129	15.1419	n/s

Na análise estatística das amostras de cultura no meio BHI, em culturas mediatas, observando nos tempos de 24 e 48 horas, constata-se ser uma amostra não-normal e submetido ao teste de Kruskal-Wallis encontra-se o valor de H calculado em 3,0999, com do X^2 para 3 graus de liberdade com valor: 3.10 e com a probabilidade de H_0 de 37.65 %, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). A comparação

entre as médias, duas a duas das culturas, mostrou não haver significância, conforme a TAB. 2.

TABELA 2 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas mediatas, no meio de cultura BHI, nos tempos de 24 e 48hs de leitura

Amostras comparadas Comparações duas a duas	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
BHI M. Soda 24hs X BHI M. Soda 48 hs	0.0000	8.1576	11.4371	16.1655	n/s
BHI M. Soda 24hs X BHI M. PTC 24 hs	0.1250	8.1576	11.4371	16.1655	n/s
BHI M. Soda 24hs X BHI M. PTC 48 hs	0.6250	8.1576	11.4371	16.1655	n/s
BHI M. Soda 48hs X BHI M. PTC 24 hs	0.1250	8.1576	11.4371	16.1655	n/s
BHI M. Soda 48hs X BHI M. PTC 48 hs	0.6250	8.1576	11.4371	16.1655	n/s
BHI M. PTC 24hs X BHI M. PTC 48 hs	0.5000	8.1576	11.4371	16.1655	n/s

Ao comparar as culturas no meio de cultura Agar, no tempo de coleta imediato das amostras, ao fazer a análise estatística, verifica-se que se trata de uma amostra não-normal e ao submete-la ao teste de Kruskal-Wallis encontra-se o valor de H calculado em 3,8614, com do X^2 para 3 graus de liberdade com valor: 3,86 e com a probabilidade de H_0 de 27.68 %, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). Na comparação das amostras duas a duas, não foi encontrada significância, conforme se pode ver na TAB. 3.

TABELA 3 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas, no meio de cultura Agar, nos tempos de 24 e 48hs de leitura

Amostras comparadas Comparações duas a duas	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
AGAR I. Soda 24hs X AGAR I. Soda 48 hs	1.6250	8.0170	11.2399	15.8868	n/s
AGAR I. Soda 24hs X AGAR I. PTC 24 hs	0.2500	8.0170	11.2399	15.8868	n/s
AGAR I. Soda 24hs X AGAR I. PTC 48 hs	0.6250	8.0170	11.2399	15.8868	n/s
AGAR I. Soda 48hs X AGAR I. PTC 24 hs	1.8750	8.0170	11.2399	15.8868	n/s
AGAR I. Soda 48hs X AGAR I. PTC 48 hs	1.0000	8.0170	11.2399	15.8868	n/s
AGAR I. PTC 24hs X AGAR I. PTC 48 hs	0.8750	8.0170	11.2399	15.8868	n/s

Analisando estatisticamente as culturas mediatas no meio Agar, constata-se que se trata de uma amostra não-normal e ao submeter ao teste de Kruskal-Wallis encontra-se o valor de H calculado em 3,4994, com do X^2 para 3 graus de liberdade com valor: 3,50 e com a probabilidade de H_0 de 32.08%, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). Comparando as amostras duas a duas, não ocorreu significância, conforme podemos ver na TAB. 4.

TABELA 4 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas mediatas, no meio de cultura Agar, nos tempos de 24 e 48hs de leitura

Amostras comparadas Comparações duas a duas	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
AGAR M. Soda 24hs X AGAR M. Soda 48 hs	1.7500	7.9721	11.1770	15.7979	n/s
AGAR M. Soda 24hs X AGAR M. PTC 24 hs	1.2500	7.9721	11.1770	15.7979	n/s
AGAR M. Soda 24hs X AGAR M. PTC 48 hs	2.2500	7.9721	11.1770	15.7979	n/s
AGAR M. Soda 48hs X AGAR M. PTC 24 hs	0.5000	7.9721	11.1770	15.7979	n/s
AGAR M. Soda 48hs X AGAR M. PTC 48 hs	0.5000	7.9721	11.1770	15.7979	n/s
AGAR M. PTC 24hs X AGAR M. PTC 48 hs	1.0000	7.9721	11.1770	15.7979	n/s

As culturas em BHI, nos dois tempos observados, onde os canais foram preparados com soda clorada, na análise estatística mostraram tratar-se de uma amostra não-normal e no teste de Kruskal-Wallis encontra-se o valor de H calculado em 3,3903, com do X^2 para 3 graus de liberdade com valor: 3,39 e com a probabilidade de H_0 de 33,53%, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). Observando a comparação das amostras duas a duas, constata-se que não houve significância, conforme nos mostra a TAB. 5.

TABELA 5 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas e mediatas, no meio de cultura BHI, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com soda clorada

Amostras comparadas Comparações duas a duas	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
BHI im. Soda 24hs X BHI im. Soda 48 hs	3.0000	7.7376	10.8482	15.3331	n/s
BHI im Soda 24hs X BHI M. Soda 24 hs	0.8750	7.7376	10.8482	15.3331	n/s
BHI im. Soda 24hs X BHI M. Soda 48 hs	1.6250	7.7376	10.8482	15.3331	n/s
BHI im. Soda 48hs X BHI M. Soda 24 hs	1.6250	7.7376	10.8482	15.3331	n/s
BHI im Soda 48hs X BHI M. Soda 48 hs	1.3750	7.7376	10.8482	15.3331	n/s
BHI M. Soda 24hs X BHI M. Soda 48 hs	0.7500	7.7376	10.8482	15.3331	n/s

Os canais preparados com Endo PTC, nos dois tempos de observação, no meio de cultura BHI, ao serem analisados estatisticamente, mostraram ser uma amostra não-normal e quando submetidos ao teste de Kruskal-Wallis encontra-se o valor de H calculado em 4,0440, com do X^2 para 3 graus de liberdade com valor: 4,04 e com a probabilidade de H_0 de 25,67%, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). Ao comparar as amostras duas a duas, verifica-se não haver significância entre as mesmas, como mostra a TAB. 6.

TABELA 6 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas e mediatas, no meio de cultura BHI, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com Endo PTC

Amostras comparadas Comparações duas a duas	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
BHI im. PTC 24hs X BHI im. PTC 48 hs	1.0000	8.0884	11.3400	16.0282	n/s
BHI im PTC 24hs X BHI M. PTC 24 hs	1.8750	8.0884	11.3400	16.0282	n/s
BHI im. PTC 24hs X BHI M. PTC 48 hs	1.7500	8.0884	11.3400	16.0282	n/s
BHI im. PTC 48hs X BHI M. PTC 24 hs	0.8750	8.0884	11.3400	16.0282	n/s
BHI im PTC 48hs X BHI M. PTC 48 hs	0.7500	8.0884	11.3400	16.0282	n/s
BHI M. PTC 24hs X BHI M. PTC 48 hs	0.1250	8.0884	11.3400	16.0282	n/s

O grupo de dentes preparado com soda clorada, onde as culturas foram realizadas em Agar sangue, nos dois tempos de observação, ao ser analisado estatisticamente mostrou ser uma amostra não-normal e assim, submetidos ao teste de Kruskal-Wallis encontra-se o valor de H calculado em 3,9906, com do X^2 para 3 graus de liberdade com valor: 3,99 e com a probabilidade de H_0 de 25,67%, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). Quando comparadas duas a duas, as amostras mostraram não haver significância, conforme mostra a TAB. 7.

TABELA 7 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas e mediatas, no meio de cultura Agar sangue, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com soda clorada

Amostras comparadas Comparações duas a duas	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
Agar im Soda 24hs X Agar im Soda 48 hs	2.1250	7.7439	10.8572	15.3457	n/s
Agar im Soda 24hs X Agar M Soda 24 hs	1.2500	7.7439	10.8572	15.3457	n/s
Agar im Soda 24hs X Agar M Soda 48 hs	0.3750	7.7439	10.8572	15.3457	n/s
Agar im Soda 48hs X Agar M Soda 24 hs	3.3750	7.7439	10.8572	15.3457	n/s
Agar im Soda 48hs X Agar M Soda 48 hs	1.7500	7.7439	10.8572	15.3457	n/s
Agar M Soda 24hs X Agar M Soda 48 hs	1.6250	7.7439	10.8572	15.3457	n/s

O grupo de dentes preparado com líquido de Dakin associado ao Endo PTC, com as culturas em Agar sangue, nos dois tempos de observação, mostrou se tratar de uma amostra não-normal e quando submetidos ao teste de Kruskal-Wallis encontra-se o valor de H calculado em 3,8942, com do X^2 para 3 graus de liberdade com valor: 3,89 e com a probabilidade de H_0 de 27,31%, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). Comparando as amostras duas a duas, verifica-se não ocorrer significância, conforme mostra a TAB. 8.

TABELA 8 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas e mediatas, no meio de cultura Agar sangue, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com Líquido de Dakin associado ao Endo PTC

Amostras comparadas Comparações duas a duas	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
Agar im PTC 24hs X Agar im PTC 48 hs	1.3750	8.1660	11.4488	1.1820	n/s
Agar im Soda 24hs X Agar M PTC 24 hs	0.8750	8.1660	11.4488	1.1820	n/s
Agar im Soda 24hs X Agar M PTC 48 hs	1.3750	8.1660	11.4488	1.1820	n/s
Agar im Soda 48hs X Agar M PTC 24 hs	0.5000	8.1660	11.4488	1.1820	n/s
Agar im Soda 48hs X Agar M PTC 48 hs	0.0000	8.1660	11.4488	1.1820	n/s
Agar M PTC 24hs X Agar M PTC 48 hs	0.5000	8.1660	11.4488	1.1820	n/s

Analisando estatisticamente os dentes em que as culturas foram realizadas imediatamente, nos dois meios de cultura, após o preparo com soda clorada, pode-se verificar que se trata de uma amostra não-normal e ao submeter ao teste de Kruskal-Wallis encontra-se o valor de H calculado em 3,3403, com do X^2 para 3 graus de liberdade com valor: 3,34 e com a probabilidade de H_0 de 22,70%, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). Então, comparando as amostras duas a duas, constata-se não haver significância, conforme mostra a TAB. 9.

TABELA 9 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas, nos dois meios de cultura, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com soda clorada

Amostras comparadas Comparações duas a duas	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
BHI im Soda 24hs X BHI im Soda 48 hs	3.8750	7.5014	10.5172	14.8652	n/s
BHI im Soda 24hs X Agar im Soda 24 hs	1.7500	7.5014	10.5172	14.8652	n/s
BHI im Soda 24hs X Agar im Soda 48 hs	3.5000	7.5014	10.5172	14.8652	n/s
BHI im Soda 48hs X Agar im Soda 24 hs	2.1250	7.5014	10.5172	14.8652	n/s
BHI im Soda 48hs X Agar im Soda 48 hs	0.3750	7.5014	10.5172	14.8652	n/s
Agar im Soda 24hs X Agar im Soda 48 hs	1.7500	7.5014	10.5172	14.8652	n/s

A análise estatística das culturas imediatas nos dois meios de cultura, onde os canais foram preparados com Líquido de Dakin associado ao Endo PTC, nos dois tempos de observação, constata-se que se trata de uma amostra não-normal e submetendo os resultados ao teste Kruskal-Wallis e encontra-se o valor de H calculado em 3,7927, com do X^2 para 3 graus de liberdade com valor: 3,79 e com a probabilidade de H_0 de 28,47, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). Comparando as amostras duas a duas, verifica-se não haver significância, conforme mostra a TAB. 5.10.

TABELA 10 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas, nos dois meios de cultura, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com líquido de Dakin associado ao Endo PTC

Amostras comparadas Comparações duas a duas	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
BHI im PTC 24hs X BHI im PTC 48 hs	1.5000	8.0554	11.2939	15.9630	n/s
BHI im PTC 24hs X Agar im PTC 24 hs	0.0000	8.0554	11.2939	15.9630	n/s
BHI im PTC 24hs X Agar im PTC 48 hs	1.0000	8.0554	11.2939	15.9630	n/s
BHI im PTC 48hs X Agar im PTC 24 hs	1.5000	8.0554	11.2939	15.9630	n/s
BHI im PTC 48hs X Agar im PTC 48 hs	0.5000	8.0554	11.2939	15.9630	n/s
Agar im PTC 24hs X Agar im PTC 48 hs	1.0000	8.0554	11.2939	15.9630	n/s

Ao se analisar estatisticamente os dentes em que as culturas foram imediatas, nos dois meios de cultura, após o preparo com soda clorada, nos dois tempos de observação, verifica-se que se trata de uma amostra não-normal e ao submeter ao teste de Kruskal-Wallis encontra-se o valor de H calculado em 2,9914, com do X^2 para 3 graus de liberdade com valor: 2,99 e com a probabilidade de H_0 de 39,30, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). Ao comparar as amostras duas a duas, verifica-se não haver significância, conforme mostra a TAB. 11.

TABELA 11 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas mediatas, nos dois meios de cultura, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com soda clorada

Amostras comparadas Comparações duas a duas	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
BHI M Soda 24hs X BHI M Soda 48 hs	1.1250	8.0853	11.3357	16.0222	n/s
BHI M Soda 24hs X Agar M Soda 24 hs	0.0000	8.0853	11.3357	16.0222	n/s
BHI M Soda 24hs X Agar M Soda 48 hs	1.0000	8.0853	11.3357	16.0222	n/s
BHI M Soda 48hs X Agar M Soda 24 hs	1.1250	8.0853	11.3357	16.0222	n/s
BHI M Soda 48hs X Agar M Soda 48 hs	0.1250	8.0853	11.3357	16.0222	n/s
Agar M Soda 24hs X Agar M Soda 48 hs	1.0000	8.0853	11.3357	16.0222	n/s

Concluindo a análise estatística, observa-se os canais preparados com líquido de Dakin associado ao Endo PTC, nos dois meios de cultura e nos dois tempos de observação, onde a coleta para cultura foi mediata, e constata-se que se trata de uma amostra não-normal e, por isso, submetida ao teste de Kruskal-Wallis, onde encontra-se o valor de H calculado em 3,7927, com do X^2 para 3 graus de liberdade com valor: 3,79 e com a probabilidade de H_0 de 28,47, sendo não-significante ($\alpha > 0,05$). Comparando as amostras duas a duas, verifica-se não haver significância, conforme mostra a TAB. 12.

TABELA 12 - Comparação das amostras, duas a duas, das culturas imediatas, nos dois meios de cultura, nos tempos de 24 e 48hs de leitura, nos canais preparados com líquido de Dakin associado ao Endo PTC

Amostras comparadas <i>Comparações duas a duas</i>	Diferenças entre médias	Valores críticos			Significância
		0,05	0,01	0,001	
BHI M PTC 24hs X BHI M PTC 48 hs	0.1250	8.2600	11.5807	16.3685	n/s
BHI M PTC 24hs X Agar M PTC 24 hs	0.2500	8.2600	11.5807	16.3685	n/s
BHI M PTC 24hs X Agar M PTC 48 hs	0.1250	8.2600	11.5807	16.3685	n/s
BHI M PTC 48hs X Agar M PTC 24 hs	0.3750	8.2600	11.5807	16.3685	n/s
BHI M PTC 48hs X Agar M PTC 48 hs	0.0000	8.2600	11.5807	16.3685	n/s
Agar M PTC 24hs X Agar M PTC 48 hs	0.3750	8.2600	11.5807	16.3685	n/s

6. DISCUSSÃO

A desinfecção do canal radicular é objetivo a ser buscado através do preparo dos canais de dentes que apresentam necrose do tecido pulpar onde ocorre a presença de microrganismos. Com o intuito de se obter essa desinfecção, usam-se substâncias químicas auxiliares do preparo.

O hipoclorito de sódio tem sido utilizado como substância auxiliar no preparo de canais radiculares em Endodontia. Quanto maior a concentração, no entanto, maior a sua toxicidade, fazendo com que se busque a desinfecção através de uma substância de concentração menor (PAIVA & ANTONIAZZI, 1973; WEY FILHO *et al.*, 1975; CVEK *et al.*, 1976; D'ARCANGELO *et al.*, 1999; ANTONIAZZI *et al.*, 1980).

No processo de irrigação dos canais radiculares, na Endodontia, sempre se está sujeito a um acidente, como uma injeção acidental de hipoclorito de sódio a 5,25% na região periapical, como o descrito por BECKER *et al.* (1974), onde os transtornos são evidentes, com sinais e sintomas desagradáveis ao paciente, bem como o outro caso de injeção acidental de hipoclorito de sódio a 5,25% descrito por ERICH *et al.* (1993), que ocorreu via raiz palatina de um molar superior para o seio maxilar, onde a sintomatologia foi menor porque ocorreu a saída do líquido pelas vias nasais.

Em oposição a isso, tem-se a associação do hipoclorito de sódio a 0,5% (líquido de Dakin) com o Endo PTC, associação de peróxido de uréia e detergente neutro veiculados em Carbowax (PEG1400), que PAIVA & ANTONIAZZI (1973) introduziram para o preparo em canais com polpa mortificada, apresentando riscos

menores e bons resultados bactericidas, conforme PAIVA & ANTONIAZZI (1973), WEY FILHO *et al.* (1975) e ANTONIAZZI *et al.* (1980), por isso, se escolheu trabalhar com esta substância.

No entanto, concentrações menores de hipoclorito podem não ter a mesma eficiência das soluções mais concentradas, na promoção da limpeza dos canais radiculares, pois quanto maior a concentração da solução de hipoclorito de sódio, maior a remoção de matéria orgânica ou de dissolução de tecido e, por consequência, quanto menor a concentração, menor a remoção ou dissolução de tecido, conforme constataram GROSSMAN (1941), SENIA *et al.* (1971), HAND *et al.* (1978), KOSKINEN *et al.* (1980), GORDON *et al.* (1981), MOORER & WESSELINK (1982), MILANO *et al.* (1991), BAUMGARTNER & CUENIN (1992), PÉCORA *et al.* (2000) e SPANÓ (2001).

Todavia, é importante lembrar que com as técnicas modernas de preparo dos canais, onde o corte dos instrumentos é muito eficaz e se realiza a remoção da matéria orgânica com esse corte, é essencial a desinfecção do canal com as substâncias que se usa no preparo do canal radicular. Assim, a remoção da matéria orgânica torna-se coadjuvante, e é onde reside a importância deste estudo, ao analisar a desinfecção de canais infectados com uma bactéria que se sabe de difícil remoção do interior do canal. E, portanto, deve-se analisar a desinfecção que estas soluções promovem no canal infectado (DAMAA, 2002).

Confirmando esta linha de pensamento, uma solução de hipoclorito de sódio com concentração menor irá agredir menos os tecidos periapicais do que uma solução mais concentrada. É o que se pode constatar no estudo de SALZGEBER & BRILLIANT (1977), que ao constatarem a presença do hipoclorito de sódio no comprimento de trabalho somente após completo preparo do canal quando os

dentes apresentavam polpa viva, o que não ocorria nos canais de polpa necrosada (com menos matéria orgânica). A evidenciação da presença do hipoclorito de sódio era possível quando o instrumento ainda não havia chegado ao comprimento de trabalho.

Assim, ao se associar o líquido de Dakin ao Endo PTC sabe-se que pela efervescência ocorre uma reação que potencializa a capacidade de limpeza e desinfecção dos canais radiculares, sendo desta forma importante considerar que a ação já não se pode comparar ao líquido de Dakin isoladamente, o que se confirma com o estudo de WEY FILHO *et al.* (1975), quando comparam a soda clorada associada à água oxigenada com o líquido de Dakin associado ao Endo PTC e constataam que ambas as associações foram eficazes nos tempos estudados.

Da mesma forma pode-se citar CVEK *et al.* (1976) que ao estudarem o efeito antibacteriano das soluções de hipoclorito de sódio a 0,5% e 5%, não encontraram diferença estatisticamente significativa. Resultado semelhante D'ARCANGELO *et al.* (1999) encontraram ao testar o efeito antibacteriano de várias concentrações de hipoclorito de sódio e constataram não haver diferença na ação bactericida da solução de hipoclorito de sódio a 5% e de 0,5%. Igualmente, ANTONIAZZI *et al.* (1980) não encontraram diferenças entre as associações de líquido de Dakin com Endo PTC, RCPrep com soda clorada e soda clorada com água oxigenada.

Estes estudos confirmam os resultados do presente estudo, uma vez que estatisticamente não se encontraram diferenças significantes na desinfecção promovida pelo líquido de Dakin associado ao Endo PTC e a soda clorada, usados na desinfecção de canais contaminados por *Enterococcus faecalis*.

Outro fator que se pode referir é que em ambos os meios de cultura ocorreu situação de similaridade na desinfecção promovida por ambas as substâncias químicas empregadas, uma vez que, estatisticamente não houve significância, mostrando a eficácia de ambas.

No tempo de coleta, imediato ou mediato, das amostras para culturas, não ocorreram diferenças estatisticamente significantes, mostrando que este não interferiu no processo de desinfecção promovido, uma vez que os canais foram irrigados com Tiossulfato de sódio a 5% para inativar as soluções empregadas no preparo dos canais, mostrando que a inativação das soluções empregadas foi eficaz.

As leituras foram realizadas nos tempos de 24 e 48 horas, para se poder observar as alterações que ocorreram nos meios de cultura, pois canais com menor contaminação levariam mais tempo para que se pudesse observar o crescimento bacteriano (PAIVA & ANTONIAZZI, 1973; AUN, 1979; e ANTONIAZZI *et al.*, 1980). Nestes estudos foi realizado também o tempo de observação de 72 horas, que no presente trabalho não foi necessário pelo rápido crescimento bacteriano observado nos meios de cultura utilizados. Ademais, a realização da cultura mediata teve por objetivo verificar a completa descontaminação do canal.

Destaque-se que a ação do hipoclorito de sódio em baixa concentração é muito restrita em seu tempo de validade da solução, devido a perda de cloro, conforme MILANO *et al.* (1991), por isso as soluções usadas neste estudo tiveram a sua manipulação poucos dias antes de seu uso, para se ter certeza de que a concentração era realmente de 0,5%. É importante lembrar que já havia sido realizada a semeadura das bactérias nos canais quando foi feito o pedido das soluções de hipoclorito de sódio.

O líquido de Dakin é menos citotóxico que as soluções mais concentradas do hipoclorito de sódio, devido a sua baixa concentração (LAURETTI *et al.*, 1975; SIMÕES *et al.* 1989; NUNES 2002). Assim sendo, quando se usa o líquido de Dakin no preparo de canais, se está tomando medidas preventivas para um eventual acidente que possa ocorrer durante o preparo de canais radiculares e, especialmente, por ser uma solução de baixa citotoxicidade.

Um fator que é importante lembrar é o tempo de trabalho proporcionado quando se utiliza uma ou outra substância química auxiliar, uma vez que, quando usamos o líquido de Dakin associado ao Endo PTC, devido a sua efervescência, dispense-se o dobro do tempo do que quando do preparo dos canais dos dentes do grupo da soda clorada. Isto demonstra que é determinante o fator tempo que a substância permanece no interior do canal, em contato com o meio contaminado, provocando uma maior desinfecção quanto maior a sua permanência no interior do canal.

Confirmando esse raciocínio, tem-se o estudo de AUN (1979) que mostra que o tempo de contato melhora a ação antimicrobiana de uma solução de hipoclorito de sódio. Assim, também é possível verificar no estudo de HARRISON E HAND (1981) que o hipoclorito de sódio a 0,5% foi eficaz apenas a partir do tempo de 15 minutos, ao passo que a soda clorada foi eficaz já no tempo de 45 segundos.

Para maior eliminação de bactérias do interior do canal radicular, é determinante o número de sessões segundo BYSTRÖM & SUNDQVIST (1983), pois quanto maior o número de sessões, maior a eliminação de bactérias, mostrando, assim, que o tempo de contato da substância é determinante. Confirmando este estudo, BYSTRÖM & SUNDQVIST (1985) constataram que com o hipoclorito de

sódio a 0,5% ocorre maior permanência de bactérias em relação a dentes tratados com hipoclorito de sódio a 5%.

O tempo de contato influi sobre a atividade antimicrobiana de soluções de hipoclorito de sódio, como se pode constatar no estudo de MARQUES (1997). A eficácia da solução de hipoclorito de sódio a 5,25% contra bactérias aeróbias e anaeróbias foi comprovada por YESILSOY *et al.* (1995), que se mostrou bastante diminuída quando a concentração da solução era de 0,5%. Resultados semelhantes com soluções de hipoclorito de sódio a 0,5% e 4% foram obtidos por SIQUEIRA JUNIOR *et al.* (1998), quando testaram a eficácia antibacteriana destas soluções.

Entretanto, vale frisar que neste estudo não se encontrou diferença nos resultados na ação das substâncias supra-citadas, com a ressalva de que a solução de hipoclorito de sódio a 0,5% foi usada associada ao Endo PTC, o que vem confirmar que o tempo de contato é primordial para que a desinfecção possa ocorrer, estando de acordo com o que já foi relatado em relação à necessidade do dobro do tempo para trabalhar com o líquido de Dakin associado ao Endo PTC em relação à soda clorada.

Baseado no exposto comprova-se a necessidade de usar uma solução menos concentrada de hipoclorito de sódio, pois os resultados mostram que a eficácia é similar à solução mais concentrada quando é usada associada ao Endo PTC que, pela sua efervescência, faz com que o hipoclorito de sódio permaneça mais tempo no interior do canal, aumentando o tempo de contato e, por consequência, sua eficácia. Há que se considerar a ação do peróxido de uréia, presente no Endo PTC, que pode potencializar desta forma a ação do hipoclorito de sódio, o que pode ser evidenciado neste estudo visto não haver diferenças significantes no comportamento bactericida das substâncias químicas utilizadas.

Entretanto, cabe frisar que a quantidade de substância química auxiliar usada em todos os dentes foi idêntica, sendo usado 20ml de solução de hipoclorito de sódio a 5,25% (soda clorada) e 19,9 ml de hipoclorito de sódio a 0,5% (líquido de Dakin) que foi associado a 0,1 mm³ de creme de Endo PTC.

Como o objetivo era buscar um modelo de estudo mais próximo possível às condições clínicas, foram usados dentes extraídos em que houvesse condições de ocorrer contaminação, inclusive nos túbulos dentinários. Para tanto, foi necessário o preparo prévio dos dentes para que fosse possível realizar a colonização do interior do canal radicular, fazendo uma ampliação do canal, permitindo a colocação do meio de cultura. Assim, foi realizada uma ampliação do canal, que pode ter alterado a permeabilidade dentinária, deixando uma contaminação maior ou menor, devido ao diâmetro dos túbulos dentinários. Porém, cabe frisar que, esta metodologia foi semelhante à usada por SIQUEIRA JUNIOR *et al.* (1997), (que realizaram sobreinstrumentação com a lima n° 50), só que utilizando como último instrumento uma lima de n° 40, também com 2 mm de sobreinstrumentação. Entretanto, teve-se o cuidado de usar uma amostra maior, para que ocorresse uma diluição da variável nos números da amostra.

Outro fator a considerar é o tempo de incubação das bactérias no interior dos canais radiculares, em que se optou por sete dias, diferente de outros estudos que usaram incubação de 24 horas (SIQUEIRA JUNIOR *et al.*, 1997; LYNNE *et al.*, 2003); três dias (SIQUEIRA JUNIOR, 1999); cinco dias RIBEIRO SOBRINHO (1998), uma, duas e três semanas AKPATA & BLECHMAN (1982), ORSTAVIK & HAAPASALO (1990) mostram que a bactéria selecionada, *Enterococcus faecalis*, pode penetrar facilmente nos túbulos dentinários, pois verificaram que em dois dias penetrou em toda a extensão de dentina.

A esterilização prévia dos dentes foi necessária, uma vez que se desejava realiza a cultura de uma bactéria específica, assim, foi usada a esterilização em óxido de etileno, por se tornar um meio confiável, de acordo com AKPATA & BLECHMAN (1982) e SIQUEIRA JUNIOR *et al.* (2000).

Neste estudo analisou-se a desinfecção provocada por substâncias químicas auxiliares do preparo de canais em dentes previamente infectados por *Enterococcus faecalis*, como sendo bactéria anaeróbia facultativa. Tornou-se possível mantê-la em ambiente aeróbio para cultura, sendo assim mais fácil de trabalhar no interior dos canais e realizar coleta de amostras para cultura.

Considerando vários estudos que confirmam a importância de trabalhar com *Enterococcus faecalis*, uma vez que se trata de uma bactéria cada vez mais freqüente nas lesões como se pode constatar nos estudos de WITTGOW & LABISTON JUNIOR (1975), que já encontraram alto índice de bactérias anaeróbias facultativas em dentes com polpa necrótica. Da mesma forma, OGUNTEBI *et al.* (1982), WILLIAMS *et al.* (1983), KOBAYASHI (1990), WAYMAN *et al.* (1992), encontraram bactérias anaeróbias facultativas em seus estudos. Também RAMACHANDRAN NAIR (1997) faz a descrição da flora de infecções endodônticas e de lesões periapicais, onde ocorre a presença de anaeróbios facultativos, dentre eles, *Enterococcus faecalis*.

Quanto às bactérias encontradas no interior do canal radicular, RAMACHANDRAN NAIR (1987) estudando a flora endodôntica constatou se tratar de uma flora mista, com presença de cocos. Além disso, se pode citar MEJÀRE (1975), CVEK *et al.* (1976), MÖLLER *et al.* (1981), FABRICIUS *et al.* (1982) MATUSOW (1986), BAUMGARTNER & FALKLER JUNIOR (1991), SIREN *et al.* (1997), SUNDQVIST *et al.* (1998), RIBEIRO SOBRINHO *et al.* (1998), LUISI (2000)

HANCOK *et al.* (2001) PECIULINE *et al.* (2001), SIQUEIRA JUNIOR *et al.* (2002) e MÖLLER *et al.* (2004), que encontraram *Enterococcus faecalis* em dentes com necrose pulpar. Ressaltando que SIREN *et al.* (1997) encontraram 33% em mono-infecção, enquanto SUNDQVIST *et al.* (1998) descrevem como sendo a bactéria de maior prevalência, sendo encontrada em 20% dos casos estudados, porcentagem que HANCOK *et al.* (2001) colocaram como em 30%. Ao descreveram a ocorrência em 52,5% dos casos estudados e a distribuição foi similar em culturas mistas ou em cultura isolada, nos estudos de PECIULINE *et al.* (2001).

É importante lembrar o fato de se ter optado por apenas um tipo de bactéria para a realização das culturas, pois como se pode verificar o alto índice de ocorrência em mono-infecção e devido ao sinergismo bacteriano, descrito por SUNDQVIST (1994), poderia ocorrer no interior dos canais dos dentes do experimento, o que dificultaria este estudo, uma vez que se teria que identificar a bactéria encontrada.

Pode-se comprovar a dificuldade de remoção do interior dos canais radiculares de *Enterococcus faecalis*, uma vez que penetra nos túbulos dentinários e sobrevive a períodos relativamente prolongados à falta de nutrientes do interior do canal, o que se confirma com os estudos de HARRISON & HAND (1981) e SIQUEIRA JUNIOR *et al.* (1997) que usaram *Enterococcus faecalis* para testar soluções de hipoclorito de sódio; AKPATA & BLECHMAN (1982), HAAPASALO & ORSTAVIK (1987), HAAPASALO & ORSTAVIK (1990), SIQUEIRA JUNIOR *et al.* (1996) e LYNNE (2003) analisaram a invasão bacteriana na dentina. Já MURRAY *et al.* (1993) analisaram as funções metabólicas dos *Enterococcus faecalis*. LOVE (2001) analisou o mecanismo de adesão bacteriano e a sobrevivência de *Enterococcus faecalis* no interior dos túbulos dentinários. Há a possibilidade da

sobrevivência de *Enterococcus faecalis* à falta de nutrição durante logo período de incubação e a capacidade de recuperação desta falta de nutrientes, estudada por FIGDOR *et al.* (2003).

Neste aspecto, é importante obter-se um bom vedamento do canal radicular, para evitar que as bactérias que permanecem no interior dos túbulos dentinários não tenham substrato para a sua proliferação. Sendo este vedamento fruto de uma boa limpeza conseguida no preparo do canal radicular, como mostra o estudo de SCHMITT & SOUZA (2003), onde o uso do Endo PTC associado ao hipoclorito de sódio foi estatisticamente superior no vedamento marginal apical em relação ao uso da substância isoladamente.

É necessário lembrar que, ao se usar a associação de líquido de Dakin e Endo PTC, se está conseguindo uma boa limpeza do canal radicular e, além disso, se está usando uma substância com baixo teor de toxicidade em relação a soluções mais concentradas e, por isso, a uma substância com baixo teor de irritação. Há, ainda, o aspecto de estar usando uma substância com o mesmo poder bactericida que a solução mais concentrada.

Entretanto, analisando os resultados obtidos e constatando-se que nenhuma das substâncias químicas auxiliares foi capaz de eliminar a contaminação sediada no interior do canal radicular, percebe-se a necessidade de se fazer uso de uma medicação intra-canal que penetre no interior dos túbulos dentinários com o objetivo de conseguir a eliminação da contaminação.

7. CONCLUSÃO

Após análise e discussão dos resultados obtidos e dadas as condições específicas desta pesquisa, pode-se concluir que:

- ✓ o líquido de Dakin associado ao Endo PTC e a soda clorada não foram capazes de eliminar totalmente a contaminação por *Enterococcus faecalis* do interior de canais radiculares, *in vitro*, não havendo diferença estatisticamente significativa entre elas.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the disinfection's properties of the sodium hypochlorite 5,25% compared to the sodium hypochlorite 0,5% associated with Endo-PTC, as auxiliary chemical substances for the preparation in in vitro *Enterococcus faecalis* infected root canals (ATCC 29212). In this purpose were used 34 human central upper incisors, whose canal were instrumented 2 mm beyond the apical foramen, with a file number 40. After, the apex was sealed with epoxi resin and assembled in blocks of plaster, so they could be handled. The teeth were sterilized with Ethilene oxide and then divided at random, in 4 groups: Group 1 - 15 teeth prepared with sodium hypochlorite 5,25%; Group 2 - 15 teeth prepared with sodium hypochlorite 0,5% associated with Endo PTC; Group 3 - 2 teeth of negative control; Group 4 - 2 teeth of positive control. The canals were inoculated with 5 drops of BHI broth in the interior of them, with contamination for the selected bacteria for the study, remaining in stove at 37°C at seven days for the complete infection from the root canal. After this time, was carried through the preparation of the canals with Gates Glidden® drills and endodontic files, using you substances according the definitive groups. In the negative control group it was only inoculated the BHI broth and in the group of positive control, it was placed the BHI btoth and the bacteria. After the preparation, the canals had been irrigated with 5ml of sodium Tiosulfate, to inactivate the sodium hypochlorite remaining, and immediately with 5 ml of physiological saline solution, then, made the first sample for culture - immediate culture. The teeth had returned more 24 hours to the stove, when mediate culture was made – the second sample for culture. The bacterial growth was evaluated through scores - without growth, minimum growth, average growth and intense growth – that it had the reading carried through in two times, 24 hours after the inoculation and 48 hours after the inoculation in BHI broth and Agar blood plates. After statistic analysis it was concluded that the sodium hypochlorite 0,5% associated with Endo PTC and the sodium hypochlorite 5,25% shown had not been capable to eliminate completely the contamination of *Enterococcus faecalis* in the elimination of in the interior of root canals, in vitro, not having different statistic significance between them.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

1. Akpata ES, Blechman H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. **J Dent Res** 1982 Feb; 61(2): 435-8.
2. Antoniazzi JH, Trabulsi LR, Paiva JG. Análise '*in vitro*' da atividade antimicrobiana de algumas substâncias auxiliares da instrumentação no preparo químico/mecânico de canais radiculares de dentes humanos – "Parte I". **Rev Paul Endod** 1980 jan-mar; 1(1): 2-15.
3. Aun CE, Paiva JG. Viabilidade da velocidade de ação germicida do hipoclorito de sódio em função da concentração (contribuição ao estudo). **Rev Assoc Paul Cir Dent** 1982 set-out; 36(5): 510-9.
4. Aun CE. **Possíveis variações do efeito antimicrobiano de uma solução de hipoclorito de sódio em função da concentração, tempo de contacto e da experimentação com e sem o uso de instrumentos endodônticos** [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1979.
5. Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. **J Endod** 1992 Dec; 18(12):605-12.
6. Baumgartner JC, Falkler JR WA. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. **J Endod** 1991 Aug; 17(8): 380-3.
7. Baumgartner JC, Watkins BJ, Bae KS. Identification of bacterial species in root canal infections. **J Endod** 1996 Apr; 22(4): 200.
8. Becker GL, Cohen S, Borer R. The sequelae of accidentally injecting sodium hypochlorite beyond the root apex. Report of a case. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1974 Oct; 38(4): 633-8.
9. Bombana AC, Paiva JG, Álvares S et al. Reação inflamatória do olho de coelho que se segue à instilação de alguns fármacos de uso endodôntico. **Rev Assoc Paul Cir Dent** 1974 jul-ago; 28: 216-23.

¹ De acordo com o Manual de Normalização para Dissertações e Teses da Faculdade de Odontologia e Centro de Pós-Graduação São Leopoldo Mandic baseado no modelo Vancouver de 1997, e abreviatura dos títulos de periódicos em conformidade com o Index Medicus.

10. Brauner AW, Conrads G. Studies into the microbial spectrum of apical periodontitis. **Int Endod J** 1995 Sept; 28(5): 244-8.
11. Brook I, Frazier EH, Gher JR ME. Microbiology of periapical abscesses and associated maxillary sinusitis. **J Periodontol** 1996 June; 67(6): 608-10.
12. Bystrom A, Happonen RP, Sjogren U et al. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. **Endod Dent Traumatol** 1987 Apr; 3(2): 58-63.
13. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0,5% sodium hypochlorite in endodontic therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1983; 55: 307-12.
14. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. **Scand J Dent Res** 1981 Aug; 89(4): 321-8.
15. Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. **Int Endod J** 1985; 18: 35-40.
16. Cunningham WT, Joseph SW. Effect of temperature on the bactericidal action on sodium hypochlorite endodontic irrigant. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1980 Dec; 50(6): 569-71.
17. Cvek M, Nord CE, Hollander L. Antimicrobial effect of root canal debridement in teeth with immature root. A clinical and microbiology study. **Odontol Rev** 1976; 27: 1-10.
18. D'Arcangelo C, Varvara G, De Fazio P. An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic, anaerobic, obligate anaerobic and microaerophilic bacteria. **J Endod** 1999 May; 25(5): 351-3.
19. Damaa C. **Avaliação da eficácia do preparo químico-cirúrgico na desinfecção de canais radiculares de dentes com polpa mortificada e lesão periapical. Uso da reação em cadeia da polimerase (PCR)** [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2002.
20. Ehrich GD, Brian D, Walker WA. Sodium hypochlorite accident: inadvertent injection into the maxillary sinus. **J Endod** 1993; 19: 180-2.

21. Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL et al. Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Braz Dent J** 2002; 13(2): 113-7.
22. Estrela CRA. **Eficácia antimicrobiana de soluções irrigadoras de canais radiculares** [dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2000.
23. Fabricius L, Dahlen G, Öhmann AE et al. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. **Scand J Dent Res** 1982 Apr; 90(2): 134-44.
24. Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. **Oral Microbial Immunol** 2002 Aug; 18(4): 234-9.
25. Gahyva SMM, Siqueira Júnior JF. Citotoxicidade e genotoxicidade de quatro soluções comerciais de hipoclorito de sódio avaliada pelo SOS Chromotest. **Rev Paul Odontol** 2001 jul-ago; 23(4): 12-4.
26. Gomes BP, Ferraz CC, Viana ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int Endod J** 2001 Sept; 34(6): 424-8.
27. Gomes BPFA, Drucker DB, Lilley JD. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. **Int Endod J** 1994 Nov; 27(6): 291-8.
28. Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. **Int Endod J** 1996 July; 29(4): 235-41.
29. Gordon TM, Damato D, Christner P. Solvent action of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. **J Endod** 1981 Oct; 7(10): 466-9.
30. Grossman LI, Meiman BW. Solution of pulp tissue by chemical agents. **J Am Dent Assoc** 1941 Feb; 28(2): 223-5.
31. Guimarães LFL, Robazza CRC, Murgel CAF et al. Tensão superficial de algumas soluções irrigantes dos canais radiculares. **Rev Odontol USP** 1988 jan-mar; 2(1): 6-9.

32. Gutiérrez JH, Jofré A, Villena F. Scanning electron microscope study on the actino of endodontic irrigants on bacteria invading the dentinal tubules. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1990 Apr; 69(4): 491-501.
33. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. **J Dent Res** 1987 Aug; 66(8): 1375-9.
34. Hancock HH, Sigurdsson A, Trope M et al. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in North American population. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 2001 May; 91(5): 579-86.
35. Hand RE, Smith ML, Harrison TW. Analisis of the effect of dilution of the necrotic tissue, dissolution property of sodium hypochlorite. **J Endod** 1978 Feb; 4(2): 60-4.
36. Harrison TW, Hand RE. The effect of dilution and organic matter on the antibacterial property of 5,25% sodium hypochlorite. **J Endod** 1981 Mar; 7(3): 128-32.
37. Heimdahl A, von Konow L, Satoh T et al. Clinical appearance of orofacial infections of odontogenic origin in relation to microbiologic findings. **J Clin Microbiol** 1985 Aug; 22(2): 299-302.
38. Hidalgo E, Bertolome R, Domingues C. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in the cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness. **Chem Biol Interact** 2002 Mar; 139(3): 265-82.
39. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional rats. **Oral Surg** 1965; 20(3): 340-9.
40. Kobayashi T, Hayashi A, Yoshikawa R et al. The microbial flora from root canals and periodontal pockets of non-vital teeth associated with advanced periodontitis. **Int Endod J** 1990 Mar; 23(2): 100-6.
41. Koskinen KP, Stenvall H, Vitto V. Dissolution of bovine pulp tissue by endodontic solutions. **Scand J Dent Res** 1980; 88: 406-11.
42. Lauretti MB, Alvares S, Paiva JG et al. Potencial irritativo do creme de Endo-PTC neutralizado pelo líquido de Dakin, seguido de irrigação com Tergensol-Furacin sobre o conjuntivo de ratos. **Rev Assoc Paul Cir Dent** 1975; 29: 8-12.

43. Love RM. *Enterococcus faecalis* – a mechanism for its role in endodontic failure. **Int Endod J** 2001 July; 34(5): 399-405.
44. Luisi SB, Fachin EVF, Mezzari A. Bacteriología das periapicopatias agudas. **Rev Fac Odontol Porto Alegre** 2000 dez; 41(2): 3-8.
45. Lynne RE, Liewer FR, West LA et al. In vitro antimicrobial activity of various medication preparation on *E. faecalis* in root canal dentin. **J Endod** 2003 mar; 29(3): 187-90.
46. Machado MEL. **EndoAtlas**: preparo químico-cirúrgico do sistema de canais radiculares. São Paulo: Sony Music; 2002. (Cd-Rom).
47. Marques AMC. **Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de soluções irrigadoras à base de clohexidina em diferentes concentrações sobre microorganismos freqüentemente encontrados no canal radicular. Estudo “in vitro”** [dissertação]. Salvador: Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia; 1997.
48. Martins RC, Barros LR, Maltos KLM. Uso de soluções irrigadoras em endodontia: um enfoque atual. **Rev CROMG** 1999 jan-abr; 5(1): 38-42.
49. Matusow RJ. Acute pulpal-alveolar cellulites syndrome IV. Exacerbations during endodontic treatment: a clinical study of specific isolates and their etiologic role. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1986 Jan; 61(1): 90-5.
50. Mejáre B. On the facultative anaerobic Streptococci in infected dental canals in man. **Odont Revy Suppl** 1975; 26: 1-26.
51. Milano NF, Girardi V, Bergold AM et al. Alguns aspectos do uso do hipoclorito de sódio em endodontia. **Rev Fac Odontol Porto Alegre** 1991 jul; 32(1): 7-10.
52. Möller AJR, Fabricius L, Dahlén G et al. Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strain. **Eur J Oral Sci** 2004; 112: 207-15.
53. Möller AJR, Fabricius L, Dahlén G et al. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue on monkeys. **Scand J Dent Res** 1981; 89: 475-84.

54. Moller AJ. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Methodological studies. **Odontol Tidskr** 1966 Dec; 74(5 Suppl): 1-380.
55. Moorer WR, Wesselink PR. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. **Int Endod J** 1982; 15(4): 187-96.
56. Nunes MRL. **Avaliação comparativa dos efeitos derivados da aplicação de algumas substâncias irrigadoras de uso endodôntico no conjuntivo subcutâneo de ratos** [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2002.
57. Oguntebi B, Slee EAM, Tanzer JM et al. Predominant microflora associated with human dental periapical abscesses **J Clin Microbiol** 1982 May; 15(5): 964-6.
58. Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressing of experimentally infected dentinal tubules. **Endod Dent Traumatol** 1990 Aug; 6(4): 142-9.
59. Paiva JC. irrigação e aspiração em endodontia. **RGO** 1959 jul-ago; 7(4): 162.
60. Paiva JG, Antoniazzi JH. O uso de uma associação de peróxido de uréia e detergente (Tween 80) no preparo químico-mecânico dos canais radiculares. **Rev Assoc Paul Cir Dent** 1973; 279(7): 416-23.
61. Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I et al. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. **Int Endod J** 2001 Sept; 34(6): 429-34.
62. Pécora JD, Savioli RN, Guerisoli DMZ et al. Efeito da redução da tensão superficial das soluções de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações sobre a limpeza dos canais radiculares. **Rev Inst Cienc Saúde** 2000 jan-jun; 18(1): 39-43.
63. Pécora JD, Souza Neto MD, Saquy PC et al. Effect of Dakin's and EDTA solutions on dentin permeability of root canals. **Braz Dent J** 1993; 4(2): 79-84.
64. Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR. The fate and role of bacteria left in root canal dentinal tubules. **Int Endod J** 1995 Mar; 28(2): 95-9.

65. Pupo J, Biral RR, Almeida OP. Atividade antimicrobiana de soluções para irrigação de canais radiculares. **RGO** 1994 jan-fev; 42(1): 17-9.
66. Ramachandran NPN. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. **Periodontol** 2000 1997 Feb; 13(3): 121-48.
67. Ramachandran NPN. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. **J Endod** 1987 Jan; 13(1): 29-39.
68. Ribeiro Sobrinho AP, Barros MH, Nicoli JR et al. Experimental root canal infection in conventional and germ-free mice. **J Endod** 1998 jun; 24(6): 405-8.
69. Rolph HJ, Lennon A, Riggio MP et al. Molecular identification of microorganisms from endodontic infections. **J Clin Microbiol** 2001 Sept; 39(9): 3282-9.
70. Rosenfeld EF, James GA, Burch BS. Vital pulp response to sodium hypochlorite. **J Endod** 1978 May; 4(5): 140-6.
71. Salzberg RM, Brilliant JD. An in vitro evaluation of the penetration of an irrigating solution in root canals. **J Endod** 1977; 3: 394-8.
72. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. **Dent Clin North Am** 1974 Apr; 18(2): 269-96.
73. Schmitt PF, Souza ADS. Avaliação do selamento marginal apical de obturações com guta-percha, com e sem remoção da camada superficial de magma dentinário. *Estudo in vitro*. **Endo J** 2003 oct; 2(2).
74. Seltzer S, Farber PA. Microbiological factors in endodontology. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1994 Nov; 78(5): 634-45.
75. Sen BH, Piskin B, Demidci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. **Endod Dent Traumatol** 1995 Feb; 11(1): 6-9.
76. Senia SE, Marshall WF, Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp of extracted teeth. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1971 Jan; 31(1): 96-103.

77. Sim TPC, Knowles JC, Shelton Y-LNg et al. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. **Int Endod J** 2001; 34(2): 120-32.
78. Simões W, Sampaio JMP, Debelian GJ. Verificação da tolerância tecidual e poder bactericida do hipoclorito a 0,5 por cento e 1 por cento usados na clínica odontológica. **Rev Paul Odontol** 1989 jul-ago; 11(4): 35-8.
79. Siqueira Júnior JF, Uzeda M, Fonseca MEF. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. **J Endod** 1996 June; 22(6): 308-10.
80. Siqueira Júnior, JF, Machado AG, Silveira RM et al. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int Endod J** 1997; 30(4): 279-82.
81. Siqueira Júnior JF, Batista MMD, Fraga RC et al. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobic and facultative bacteria. **J Endod** 1998 June; 24(6): 414-6.
82. Siqueira Júnior JF, Lopes HL, Magalhães FAC et al. Efeito antibacteriano do hipoclorito de sódio a 1 por cento e a 5,25 por cento sobre bacilos anaeróbicos produtores de pigmentos negros. **Rev Paul Odontol** 1999 jan-fev; 21(1): 4-6.
83. Siqueira Júnior JF, Rôças IN, Favieri A et al. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2,5% and 5,25% sodium hypochlorite. **J Endod** 2000 June; 26(6): 331-4.
84. Siqueira Júnior JF, Rôças IN, Souto R et al. *Actinomyces* species, *Streptococci*, and *Enterococcus faecalis* in primary root canal infection. **J Endod** 2002 Mar; 28(3):168-72.
85. Siren EK, Haapasalo MP, Ranta K et al. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. **Int Endod J** 1997 Mar;30(2): 91-5.
86. Soares JA, Cesar CAS, Pires Júnior DR et al. Soluções irrigadoras versus dor após endodontia em sessão única, em dentes com patologias periapicais. **Rev Assoc Paul Cir Dent** 2001 mar-abr; 55(2): 125-9.

87. Spanó JC, Barbin EL, Santos TC et al. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. **Braz Dent J** 2001; 12(3): 154-7.
88. Stewartr GG, Cobe HM, Rappaport H. Study of a new medicament in the chemomechanical preparation in infected root canal. **J Am Dent Assoc** 1961 July; 63: 33-7.
89. Sunde PT, Olsen I, Debelian GJ et al. Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. **J Endod** 2002 Apr; 28(4): 304-10.
90. Sundqvist G. Association between microbial species in dental root canal infections. **Oral Microbiol Immunol** 1992a; 7: 257-62.
91. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. **J Endod** 1992b Sept; 18(9): 427-30.
92. Sundqvist G. Taxonomy, ecology and pathogenicity of root canal flora. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1994 Oct; 78(4): 522-30.
93. Sundqvist G, Figdor D, Persson S et al. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and outcome of conservative re-retreatment. **Oral Surg Oral Méd Oral Pathol** 1998 Jan; 85: 86-93.
94. Thé SD, Maltha JC, Plasschaert AJM. Reactions of guinea pig subcutaneous connective tissue following exposure to sodium hypochlorite. **Oral Surg** 1980; 49(5): 460-6.
95. Trepagnier CM, Maden RM, Lazzari EP. Quantitative study of sodium hypochlorite as an in vitro endodontic irrigant. **J Endod** 1977 May; 3(5): 194-6.
96. Türkün M, Cengiz T. The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root canal cleanliness. **Int Endod J** 1997 Sept; 30(5): 335-42.
97. Vansan LP. **Efeito de várias soluções irrigantes na limpeza do canal radicular, com auxílio da instrumentação ultra-sônica. Análise histológica [dissertação].** Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 1988.

98. Wayman BE, Murata SM, Almeida RJ et al. A bacteriological and histological evaluation of 58 periapical lesions. **J Endod** 1992 Apr; 18(4): 152-5.
99. Weiger R, Manncke B, Werner H et al. Microbial flora of sinus tracts and root canals of non-vital teeth. **Endod Dent Traumatol** 1995 Feb; 11(1): 15-9.
100. Wey Filho R, Aun CR, Paiva JG et al. Efeito antimicrobiano *in vitro* de algumas substâncias químicas auxiliares do preparo químico-mecânico do canal, utilizadas na desinfecção de canais radiculares. **Rev Assoc Paul Cir Dent** 1975 nov-dez; 29: 40-7.
101. Williams BL, McCann GF, Schoenknecht FD. Bacteriology of dental abscesses of endodontic origin. **J Clin Microbiol** : 18(4): 770-4.
102. Wittgow Jr WC, Labiston Jr CB. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. **J Endod** 1975 May; 1(5): 168-71. Yesilsoy C, Witaker E, Cleveland D et al. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. **J Endod** 1995 Oct; 21(10): 513-5.

ANEXOS



Lote esterilizado: 6053 Máq.:01

Carga:01

Início de esterilização :20/09/04 Hora:19:58

Início de teste :21/09/04 Hora:03:40

LAUDO MICROBIOLOGICO

1-OBJETIVO:

Avaliar a eficiência do processo de esterilização através de bioindicadores.

2-MATERIAL ANALIZADO:

Foi analisado 01(um) indicador biológico, com ampola contendo no seu interior um disco de papel filtro impregnado com ESPOROS DE BACILUS SUBTILIS.
O meio de cultura contém um indicador de pH chamado vermelho fenol.

3-PROCEDIMENTOS ADOTADOS:

3.1-Na esterilização

Foi colocado 01 (UM) indicador biológico na auto clave conforme posição descrita no controle de carga de esterilização(RQ 3017)

O período de exposição foi de 3,5 horas, com aeração de 1,5 horas.

3.2-O indicador foi incubado a 37°C durante 48,0 horas.

4-RESULTADO:

Observou-se que no indicador biológico não houve mudança de cor ; logo, não houve crescimento de microorganismos.

OBS: Foram utilizados também 08 Integradores Químicos distribuídos na carga, os quais comprovaram a existência de parâmetros normais no processo.

5-COMENTÁRIOS TÉCNICOS:

A ausência de crescimento de microorganismos no indicador biológico é característica de eficiência do processo de esterilização nos pontos analisados.

Porto Alegre, 24 de Setembro de 2004.

Eng. Hêlida Fotkamp.
Mic Serviços de Esterilizações Ltda

Resp. Téc. Ronaldo Torma Bernardo.
CRQ-05201249



São Leopoldo Mandic
Faculdade de Odontologia
Centro de Pesquisas Odontológicas

Campinas, 13 de Setembro de 2004.

Para:
Dra. Dália dos Prazeres Rodrigues
Chefe do Laboratório de Enterobactérias/IOC/FIOCRUZ

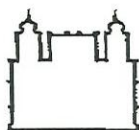
Doutora Dália:

Venho solicitar, através desta, o envio de três amostras de bactérias Enterococcus faecalis ATCC 29212, que se destinam para o desenvolvimento do projeto de pesquisa do aluno Paulo Francisco Schmitt, regularmente inscrito no Curso de Mestrado em Odontologia, área de concentração: Endodontia, desta instituição, que tem por título AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO PODER DE DESINFECÇÃO DA SODA CLORADA VERSUS LÍQUIDO DE DAKIN ASSOCIADO AO ENDO-PTC, DE CANAIS RADICULARES CONTAMINADOS *IN VITRO* POR ENTEROCOCUS FAECALIS.

A necessidade do número de amostras deve-se ao fato de ser realizado, em primeiro lugar um piloto da pesquisa e, após, a pesquisa em duas etapas distintas e após o uso para a realização das culturas, as bactérias serem descartadas, com o crescimento de uma nova amostra.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Thomaz Wassall
Coordenador Pós-Graduação



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz

Vice-Presidência de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico

DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGIA – IOC – FIOCRUZ SETOR DE COLEÇÃO DE CULTURAS DE BACTÉRIAS

INSTRUÇÕES PARA REIDRATAÇÃO DAS CULTURAS

- 1) Serrar a base da parte superior da ampola, conforme o desenho.
- 2) Quebrar a ampola no local serrado, protegendo com uma gaze embebida em álcool a 70%.
- 3) Caso não possua serrinha para vidro, proceda da seguinte forma:
 - a) Aquecer a parte superior da ampola na chama do bico de Bunsen.
 - b) Adicionar algumas gotas de solução salina gelada estéril (NaCl 0,85%) na parte aquecida da ampola para que o vidro quebre por choque térmico, tomando cuidado para que não escorra líquido aquecido até o liófilo.
 - c) Retirar a parte superior fragmentada com o auxílio de uma pinça estéril.
- 4) Adicionar com uma pipeta Pasteur estéril, 0,3 a 0,5 ml. do meio de cultivo recomendado para tal microrganismo.
- 5) Ressuspender o liófilo homogeneizando-o.
- 6) Transferir a suspensão para tubos ou placas contendo o meio de cultivo recomendado.
- 7) Incubar na temperatura de crescimento recomendada para tal microrganismo.

Obs.: caso o microrganismo não apresente crescimento durante o período de tempo de 24 horas, prolongar a incubação por mais 24 horas, antes de ser descartado como inviável.



	Cult. Imediata BHI 24hs	Cult. Imediata BHI 48hs	Cult.Mediata BHI 24hs	Cult.Mediata BHI 48hs
Soda Clorada Ñ	1,2,5,6,9,10,17,18,22,25,26,29	10,13,18,22,25	2,5,9,17,21,25,26,29	29
Mín.	13	5,9,17,29	1,6,10,13,18,22	5,9
Médio	14,21	1,14	14	2,13,17
Intenso		2,6,21,26		1,6,10,14,18,21,22,25,26
Dakin+PTC Ñ	3,8,11,12,24,27,28,30	8,11,30	3,11,12,19,30	12
Mín.	15,16,19,23	12,16,19,24,27	7,8,20,23,24,28	3,8,19
Médio	4,7	7,15,23	4,15,16,27	4,20,24,28,30
Intenso	20	3,4,20,28		7,11,15,16,23,27

	Cult. Imediata AGAR 24hs	Cult. Imediata AGAR 48hs	Cult.Mediata AGAR 24hs	Cult.Mediata AGAR 48hs
Soda Clorada Ñ	6,10,13,14,18,21,22,25,26,29	10,13,22,29	1,2,9,10,14,17,18,22,25,26,29	1,2,10,17,18,25,26,29
Mín.	5,9,17	5,6,9,21	5,21	9,14,21,22,
Médio	1,2	14,17,18,25.	6,13	
Intenso		1,2,26		5,6,13
Dakin+PTC Ñ	4,7,8,12,15,19,20,23,27,30	4,8,12,15,19,20,30.	3,4,12,16,19,28,30.	4,12,19,28,
Mín.	3,16,24,28	7	7,11,15,20,24,27	24,30.
Médio	11	3,16,27	8,23	3,15,16,20,23,27.
Intenso		11,23,24,28		7,8,11.

VALORES ORIGINAIS DAS CULTURAS, DE ACORDO COM OS RESULTADOS OBTIDOS.

Número do dente X Meio de cultura X Tempo de leitura X Escore

VALORES ORIGINAIS DAS CULTURAS, DE ACORDO COM OS RESULTADOS OBTIDOS.

Número de dentes X Meio de cultura X Tempo de leitura X Escore

	Cult. Imediata BHI 24hs	Cult. Imediata BHI 48hs	Cult.Mediata BHI 24hs	Cult.Mediata BHI 48hs
Soda Clorada Ñ	12	5	8	1
Mínimo	1	4	6	2
Médio	2	2	1	3
Intenso		4		9
Dakin+PTC Ñ	8	3	5	1
Mínimo	4	5	6	3
Médio	2	3	4	5
Intenso	1	4		6

	Cult. Imediata AGAR 24hs	Cult. Imediata AGAR 48hs	Cult.Mediata AGAR 24hs	Cult.Mediata AGAR 48hs
Soda Clorada Ñ	10	4	11	8
Mín.	3	4	2	4
Médio	2	4	2	
Intenso		3		3
Dakin+PTC Ñ	10	7	7	4
Mín.	4	1	6	2
Médio	1	3	2	6
Intenso		4		3

Aprovado pelo CEP

Campinas, 14 de Agosto de 2.004.

A(o)

C.D. Paulo Francisco Schmitt

Curso : Endodontia

Prezado(a) Aluno(a):

O projeto de sua autoria "Avaliação Comparativa do poder de Desinfecção da Soda Clorada Versus Líquido de Dakin Associado ao Endo-PCT, de Canais Radiculares Contaminados In Vitro por Enterococcus Faecalis "

Orientado pelo(a) Prof(a). Dr(a). Arlindo Di Spagna Souza

Entregue na Secretaria de Pós-graduação do CPO - São Leopoldo Mandic, no dia 21/06/04, com número de protocolo nº 1085, foi APROVADO pelo comitê de Ética e Pesquisa instituído nesta Universidade de acordo com a resolução 196 / 1.996 do CNS - Ministério da Saúde, em reunião realizada no dia 13/07/2004.

Cordialmente



Coordenador de Pós-Graduação

PROF. DR. THOMAZ WASSALL

Aprovado pelo CEP

Campinas, 14 de Agosto de 2004.

A(o)

C.D. Paulo Francisco Schmitt

Curso : Endodontia

Prezado(a) Aluno(a):

O projeto de sua autoria "Avaliação Comparativa do poder de Desinfecção da Soda Clorada Versus Líquido de Dakin Associado ao Endo-PCT, de Canais Radiculares Contaminados In Vitro por *Enterococcus Faecalis* "

Orientado pelo(a) Prof(a). Dr(a). Arlindo Di Spagna Souza

Entregue na Secretaria de Pós-graduação do CPO - São Leopoldo Mandic, no dia 21/06/04, com número de protocolo nº 1085, foi APROVADO pelo Comitê de Ética e Pesquisa instituído nesta Universidade de acordo com a resolução 196 / 1.996 do CNS - Ministério da Saúde, em reunião realizada no dia 13/07/2004.

Cordialmente



Coordenador de Pós Graduação

PROF. DR. THOMAS WASSALL