

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA ODONTOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

RAMILLE ARAÚJO LIMA

O USO DA CLOREXIDINA INTRACANAL EM MOLARES DECÍDUOS COM
NECROSE PULPAR – ESTUDO CLÍNICO E MICROBIOLÓGICO

FORTALEZA

2009

RAMILLE ARAÚJO LIMA

O USO DA CLOREXIDINA INTRACANAL EM MOLARES DECÍDUOS COM
NECROSE PULPAR – ESTUDO CLÍNICO E MICROBIOLÓGICO

Dissertação submetida à Coordenação do Programa
de pós-graduação em Odontologia da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em Odontologia

Área de Concentração:

Clínica Odontológica

Orientador:

Professora Doutora Cristiane Sá Roriz Fonteles

FORTALEZA

2009

L71u Lima, Ramille Araújo

O Uso da clorexidina intracanal em molares decíduos com necrose pulpar : estudo clínico e microbiológico / Ramille Araújo Lima. – Fortaleza, 2009.

124 f. : il.

Orientador: Profa. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza-Ce, 2009

1. Odontopediatria 2. Pulpectomia 3. Clorexidina I. Fonteles, Cristiane Sá Roriz (orient.) II. Título

CDD: 617.645

RAMILLE ARAÚJO LIMA

O USO DA CLOREXIDINA INTRACANAL EM MOLARES DECÍDUOS COM
NECROSE PULPAR – ESTUDO CLÍNICO E MICROBIOLÓGICO

Aprovada em 08 / 10 / 2009

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles (Orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Profa. Dra. Cibele Barreto Mano de Carvalho
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dra. Grace Sampaio Teles da Rocha
Universidade de Fortaleza - UNIFOR

Dedico este trabalho aos meus pais, Arnaldo e Neves por todo o investimento e incentivo depositado em mim ao longo dos anos, e ao meu irmão, Júnior, pela amizade e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado saúde, coragem e paciência para vencer os inúmeros desafios enfrentados

Aos meus pais, Arnaldo e Neves, pelo incentivo e compreensão, e pelo exemplo de vida e perseverança que me proporcionam todos os dias

Ao meu irmão, Júnior, pela amizade e companheirismo

Aos meus familiares, por sempre acreditarem no meu potencial

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), pelo apoio financeiro na forma de bolsa de auxílio

À Professora Doutora Cristiane Sá Roriz Fonteles, orientadora desta dissertação, por todo o auxílio prestado e os ensinamentos dados desde a época da graduação, o que me permitiu chegar até esse momento

À Professora Doutora Cibele Barreto Mano de Carvalho, pela utilização do Laboratório de Bacteriologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará

À Coordenação e ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, por todo o incentivo e apoio intelectual na execução da pesquisa

Às funcionárias da Clínica de Odontopediatria e Ortodontia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Eloneide, Leuda, Luiza e Marta, pelo auxílio durante a etapa clínica da pesquisa

Aos funcionários do Departamento de Patologia e Medicina Legal - Olavo, Teresinha e Everardo, pela ajuda durante a etapa microbiológica da pesquisa

Aos alunos de graduação que colaboraram de alguma forma com esta pesquisa

À bibliotecária Rosane Costa, da Biblioteca de Ciências da Saúde da UFC, pela correção das referências bibliográficas

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFC, Lúcia e Germano, pela ajuda e atenção

Meus sinceros agradecimentos aos voluntários desta pesquisa e aos seus pais, por permitirem suas participações

A todos os que, direta e indiretamente, contribuíram para essa pesquisa ser concluída

"O conhecimento é o único bem que se
adquire por toda a eternidade."
(Dilson de Oliveira Nunes)

RESUMO

O sucesso do tratamento endodôntico depende de muitos fatores, sendo a redução ou eliminação da infecção bacteriana o mais importante desses fatores. Portanto, o uso de substâncias capazes de agir nesses microorganismos e em seus subprodutos torna-se uma etapa importantíssima no tratamento. O objetivo deste ensaio clínico “split-mouth” foi comparar a eficácia da clorexidina gel 1% e do hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado (Callen PMCC®), como medicação intracanal, e do tratamento executado em sessão única (grupo controle), contra *Estreptococos* do grupo mutans (EGM) e bactérias anaeróbias presentes no interior dos canais radiculares de molares decíduos com necrose pulpar. Um total de 21 crianças (37 dentes) participou do estudo. Amostras iniciais (pré-tratamento) e finais (após a permanência das substâncias por 14 dias no interior dos canais) foram coletadas para análise microbiológica e incubadas em placas de Mitis Salivarius Bacitracina, em aerofilia, para a observação dos níveis de EGM, assim como em placas de Brucella ágar, em anaerobiose, para verificação de bactérias anaeróbias. Os níveis de sucesso da pulpectomia após um período de acompanhamento de até 12 meses foram analisados baseados em parâmetros clínicos e radiográficos. A clorexidina gel a 1% reduziu significativamente os níveis de EGM ($p=0,010$, teste de Wilcoxon) e o Callen PMCC® reduziu significativamente os níveis de bactérias anaeróbias ($p=0,002$, teste de Wilcoxon). Observou-se diferença significativa na comparação da redução dos níveis de EGM obtidos pelo grupo da clorexidina e pelo controle ($p=0,032$, Mann-Whitney). A taxa de sucesso do tratamento foi de 81,71% no grupo do Callen PMCC®, 78,57% para o grupo da clorexidina gel 1% e 77,77% no grupo controle. Concluiu-se que a clorexidina gel a 1%, assim como o hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado, possui eficácia limitada na redução de bactérias dos canais radiculares decíduos infectados. Os presentes resultados sugerem que uma possível associação entre as medicações testadas em estudos futuros pode eliminar de maneira mais eficaz estas bactérias.

Palavras-chave: Odontopediatria, Pulpectomia, Clorexidina

ABSTRACT

The success of endodontic treatment depends on many factors, and the reduction or elimination of bacterial infection is the most important one. Therefore, the use of substances that act against these microorganisms and their products becomes an important stage in treatment. The aim of this in vivo split-mouth study was to compare the efficacy of a 1% chlorhexidine gel, calcium hydroxide/camphorated paramonochlorophenol (Callen PMCC®) as intracanal medications, and a Control group (1-visit endodontic treatment) against mutans streptococci (EGM) and anaerobic bacteria found in primary molars with necrotic pulps. A total of 21 children (37 teeth) participated in this study. Initial (pre-treatment) and final (14 days post-treatment) intra-canal samples were collected for microbiological analysis and were incubated in Mitis Salivarius Bacitracin plates under microaerophilic conditions for EGM counting; as well as in Brucella-agar plates, anaerobically, to allow growth of anaerobic bacteria. The success rate of the pulpectomies after a 12 months follow-up were also evaluated based on clinical and radiographic parameters. Chlorhexidine gel significantly reduced EGM levels ($p=0,010$, Wilcoxon test), whereas Callen PMCC® significantly reduced anaerobic bacteria levels ($p=0,002$). Significant difference was observed when comparing EGM reduction levels between the Chlorhexidine and Control groups ($p=0,032$, Mann-Whitney test). The success rate was 81,71% in the Callen PMCC® group, 78.57% in the Chlorhexidine group and 77.77% in the control group. We concluded that 1% chlorhexidine gel, as well as calcium hydroxide/camphorated paramonochlorophenol, has limited efficacy in the reduction of bacteria from deciduous infected root canals. The present results suggest that a possible association between these two medications in future studies may eliminate more efficiently these bacteria.

Key-words: Pediatric Dentistry, Pulpectomy, Chlorhexidine

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Cones de papel inseridos nos canais radiculares para coleta	68
Figura 2. Colocação do cone de papel no tubo eppendorf® contendo RTF	68
Figura 3. Placas em ambiente de microanaerofilia	71
Figura 4. Visualização das colônias após a retirada da placa do interior da jarra	71
Figura 5. Semeadura nas placas de Brucella ágar	73
Figura 6. Placas no interior da jarra de anaerobiose, juntamente com o anaerobac	73
Figura 7. Visualização das colônias nas placas de Brucella ágar	74
Gráfico 1. Distribuição das idades e respectivas médias do grupo 1 (HC+PMCC), grupo 2 (CHX) e grupo 3 (Controle)	78
Gráfico 2. Número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de EGM antes e após os diversos tratamentos. Valores expressos em medianas	83
Gráfico 3. Número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) anaeróbias antes e após os diversos tratamentos. Valores expressos em medianas	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição dos materiais utilizados como medicação intra-canal	65
Tabela 2. Descrição da amostra do estudo segundo idade, sexo, dente com necessidade de tratamento endodôntico e medicação utilizada	77
Tabela 3. Dados da estatística básica aplicada aos níveis de contaminação iniciais e finais por EGM encontrados nas amostras dos grupos 1 (HC+PMCC), 2 (CHX) e 3 (Controle)	79
Tabela 4. Contagem inicial, final e os níveis de redução de EGM das amostras do grupo 1 (HC+PMCC)	80
Tabela 5. Contagem inicial, final e os níveis de redução de EGM das amostras tratadas com clorexidina gel a 1%	81
Tabela 6. Contagem inicial, final e os níveis de redução de EGM das amostras do grupo Controle	82
Tabela 7. Dados da estatística básica aplicada aos níveis de contaminação iniciais e finais por bactérias anaeróbias encontrados nas amostras do grupo 1 (HC+PMCC), grupo 2 (CHX) e grupo 3 (Controle)	84
Tabela 8. Contagem inicial, final e os níveis de redução de bactérias anaeróbias das amostras do grupo 1 (HC+PMCC)	85
Tabela 9. Contagem inicial, final e os níveis de redução de bactérias anaeróbias das amostras do grupo 2 (CHX)	86
Tabela 10. Contagem inicial, final e os níveis de redução de bactérias anaeróbias das amostras do grupo controle	87
Tabela 11. Número de ufc/ml das coletas iniciais do grupo 1(HC+PMCC) e do grupo 2 (CHX), distribuídas de acordo com o morfotipo bacteriano. As unidades formadoras de colônia passíveis de identificação também estão apresentadas na tabela	90

Tabela 12. Número de ufc/ml das coletas finais do grupo 1(HC+PMCC) e do grupo 2 (CHX), distribuídas de acordo com o morfotipo bacteriano. As unidades formadoras de colônia passíveis de identificação também estão apresentadas na tabela	91
Tabela 13. Número de ufc/ml das coletas iniciais e finais do grupo controle, distribuídas de acordo com o resultado do teste de coloração de gram	92
Tabela 14. Acompanhamento clínico e radiográfico de até 12 meses de dentes tratados com HC + PMCC (Grupo 1) ou CHX (Grupo 2)	94
Tabela 15. Acompanhamento clínico e radiográfico de até 6 meses de dentes tratados em sessão única (grupo controle)	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μ L – microlitro

BHI – “brain heart infusion”

C – carbono

Ca – cálcio

CHX - clorexidina

Cl – cloro

cm – centímetro

COMEPE – Comitê de Ética em Pesquisa

EDTA – “Etilenodiaminotetraacetic Acid”

EGM – estreptococos do grupo mutans

g – grama

H – hidrogênio

HC – hidróxido de cálcio

HL – haste longa

K – potássio

KVp – “Kilovolt peak”

LPS - lipopolissacarídeos

mA – miliampere

MAS – Agar mitis salivaris

mL – mililitro

MIC – concentração inibitória mínima

MSB – mitis salivaris bacitracina

N – nitrogênio

Na – sódio

O₂ – oxigênio

p – nível de significância

pH – potencial hidrogeniônico

PMCC – paramonoclorofenol canforado

RTF – “reduced transport fluid”

ufc/ml – unidade formadora de colônia por mililitro

LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

® - marca registrada

°C – graus centígrados

n^o – número

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 Microbiologia dos canais radiculares	21
2.1.1 Microbiologia dos canais radiculares de dentes decíduos	27
2.2 Tratamento endodôntico de dentes decíduos	30
2.2.1 Anatomia dos canais radiculares	30
2.2.2- Pulpectomia	31
2.2.3 O uso da medicação intra-canal	32
3. OBJETIVOS	58
3.1 Objetivo geral	58
3.2 Objetivos específicos	58
4. MATERIAIS E MÉTODOS	59
4.1 Protocolo Clínico	59
4.1.1 Desenho do estudo	59
4.1.2 Examinadores	59
4.1.3 Amostra	59
4.1.4 Critérios de randomização	60
4.1.5 Seleção dos voluntários	60
4.1.6 Entrada do voluntário no estudo	62
4.1.7 Critérios de avaliação clínicos e radiográficos	68
4.2 Protocolo Analítico	69
4.2.1 - Critérios de armazenagem e transporte dos espécimes	69
4.2.2 - Análise de Estreptococos do grupo mutans (EGM)	69
4.2.3 - Análise de microorganismos anaeróbios	72
4.3 Aspectos Éticos	75
4.3.1 Comitê de ética em pesquisa	75
4.3.2 Termo de Consentimento	75
4.4- Análise Estatística	75
5. RESULTADOS	76
5.1 Idade	76

5.2 Níveis de contaminação iniciais por estreptococos do grupo mutans (EGM)	78
5.3 Níveis de contaminação finais por EGM	79
5.4 Níveis de redução de EGM	79
5.4.1. Grupo 1 (hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado).....	79
5.4.2. Grupo 2 (clorexidina)	80
5.4.3. Grupo 3 (controle)	82
5.4.4 Comparação da redução entre os grupos	82
5.5 Níveis de contaminação iniciais por bactéria anaeróbias	83
5.6 Níveis de contaminação finais por bactéria anaeróbias	84
5.7 Níveis de redução de bactérias anaeróbias	84
5.7.1 Grupo 1	84
5.7.2 Grupo 2.....	86
5.7.3 Grupo 3	87
5.7.4 Comparação da Redução entre os grupos.....	88
5.8 Resultados do teste de coloração de gram	89
5.9 Avaliação do desfecho do tratamento (sucesso ou insucesso)	93
6. DISCUSSÃO	96
7.CONCLUSÃO	103
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104
ANEXOS	104

1 INTRODUÇÃO

A terapia endodôntica durante a infância deve sempre ser considerada como alternativa de tratamento em substituição à exodontia, uma vez que a manutenção da dentição decídua em suas condições anátomo-funcionais preserva a função e produz benefícios estéticos e psicológicos, sendo este um dos principais objetivos da Odontopediatria. A perda dentária precoce por meio de exodontias gera a necessidade de manutenção de espaço, para preservar a circunferência do arco e evitar futuros problemas de natureza ortodôntica. Entretanto, a posterior colocação de um aparelho “mantenedor de espaço” com esta função não possui a igual capacidade de um dente desinfetado e restaurado com sucesso, em repor o espaço perdido (BELANGER, 1988). O tratamento a partir da colocação de aparelhos é muito oneroso para o serviço público, ônus este que pode ser evitado, quando se mantém o dente até o momento de sua esfoliação fisiológica.

A cárie dentária continua sendo um grande problema em odontologia e deve receber muita atenção na prática diária. Embora tenhamos observado um declínio na prevalência desta condição, ela ainda afeta a maioria da população dos países em desenvolvimento (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001). Dentro do atual contexto da saúde no Ceará, a saúde bucal tem merecido atenção especial, mostrando uma população extremamente necessitada de tratamento odontológico. Esta carência evidencia-se com mais clareza na população infantil. No Nordeste, o índice ceo-d (dentes cariados, perdidos e obturados) para a idade de 05 anos é de 3.21, ficando acima do índice encontrado no Brasil, que é de 2.80 (BRASIL, 2004). Apesar da indubitável relevância conferida ao desenvolvimento de métodos preventivos, é de suma importância a melhoria do tratamento curativo atual. Segundo dados do SB Brasil, na região Nordeste, crianças na faixa etária de 05 anos apresentam dentes decíduos com maior necessidade de tratamento endodôntico que extração.

Dentre as diversas modalidades de tratamento endodôntico, a pulpectomia, ou tratamento endodôntico radical, está indicada quando a polpa radicular encontra-se irreversivelmente inflamada ou com perda de sua vitalidade (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY, 2009). Essa técnica foi considerada, durante muito tempo, impraticável, devido à complexidade da morfologia dos canais radiculares decíduos e à dificuldade em se obter um adequado acesso aos canais (GOERIG; CAMP, 1983). Entretanto,

com a introdução de técnicas que determinam, simultaneamente, eficiência, economia e adequação ao comportamento da criança de pouca idade, o trabalho tornou-se acessível ao clínico (COSER; GIRO, 2002). O sucesso da pulpectomia irá depender da redução do número de bactérias no interior dos canais radiculares, fator diretamente vinculado à irrigação e ao preparo mecânico do canal durante o tratamento endodôntico. Ademais, sem a utilização da medicação intra-canal, metade dos canais endodonticamente tratados iria apresentar bactérias na segunda sessão (BYSTRÖM; CLAEISSON; SUNDQVIST, 1985).

O hidróxido de cálcio, largamente utilizado em tratamentos endodônticos, é uma substância fortemente alcalina, cujo pH é aproximadamente 12.5. Em solução aquosa, o hidróxido de cálcio dissocia-se em íons cálcio e hidroxila. A maioria dos patógenos associados à infecção endodôntica é incapaz de sobreviver em meio altamente alcalino. Os íons hidroxila são oxidantes de radicais livres, que mostram extrema reatividade, reagindo com várias biomoléculas. Os seus efeitos letais às células bacterianas dão-se através do dano à membrana citoplasmática bacteriana, desnaturação proteica e danos ao DNA bacteriano (SIQUEIRA JÚNIOR; LOPES, 1999).

O paramonoclorofenol (PMC) foi introduzido na Odontologia por Walkhoff em 1891 (FAVA; SAUNDERS, 1999) e, desde então, vem sendo extensivamente utilizado em odontologia. Os componentes fenólicos possuem potente atividade antimicrobiana, e a halogenização intensifica sua atividade antibacteriana. (O'CONNOR; RUBINO, 1991). A combinação do PMC com outras substâncias, ou a sua diluição, tem sido proposta com o objetivo de potencializar a atividade antibacteriana e reduzir a citotoxicidade do medicamento. A associação com a cânfora, formando a substância conhecida como paramonoclorofenol canforado (PMCC), além de funcionar como veículo, propicia um aumento do poder germicida da associação, reduzindo também seu potencial de irritação, uma vez que a cânfora reduz o poder cáustico do PMC (LOPES; SIQUEIRA JÚNIOR, 1999). Evidências sugerem que a associação do hidróxido de cálcio com o paramonoclorofenol canforado tem um maior espectro de ação antibacteriana e elimina bactérias mais rápido que misturas do hidróxido de cálcio com veículos inertes. Portanto, o paramonoclorofenol canforado não deve ser considerado um veículo para o hidróxido de cálcio, mas sim um medicamento adicional (SIQUEIRA; LOPES, 1999).

A clorexidina, antimicrobiano que pode suprimir o crescimento de *Streptococcus mutans*, tem sido considerada como um potente agente na prevenção de cáries (EMILSON,

1994). Catiônico bisbiguanido com ótima ação antimicrobiana, quando o pH varia de 5,5 a 7,0, tem eficácia é baseada na interação entre o lado positivo da molécula e o negativo dos grupos fosfatos na parede celular bacteriana, permitindo que a clorexidina penetre no microorganismo e cause a quebra de componentes intracelulares (LINDSKOG; PIERCE; BLOMLOF, 1998). Apresenta uma potente atividade antibacteriana contra grande parte dos organismos gram-positivos e gram-negativos, como anaeróbios facultativos e aeróbios. Além da excepcional atividade antimicrobiana, outra de suas características favoráveis é a substantividade (WUERCH *et al.*, 2004). A forma gel da clorexidina possui propriedades favoráveis para uso como medicação intracanal, pois sua viscosidade característica confere boa adaptação às paredes do canal radicular, e uma atividade residual que se estende por mais de duas semanas (MANZUR *et al.*, 2007).

Até a presente data, poucos estudos foram realizados a fim de avaliar o uso de medicação intra-canal nos dentes decíduos, havendo a necessidade de se identificar uma substância que possua baixa toxicidade, baixo custo, com espectro de ação e propriedades favoráveis. Acredita-se ser a clorexidina uma substância com aplicabilidade nestas situações clínicas, devido ao seu espectro de ação aliado a uma boa margem de segurança, mas ensaios clínicos fazem-se necessários para comprovar sua eficácia como medicação intracanal na dentição decídua.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Microbiologia dos canais radiculares

Mais de 700 espécies bacterianas diferentes são reconhecidas como habitantes normais da cavidade oral (AAS *et al.*, 2005) e todas estas, teoricamente, têm a capacidade de invadir os canais radiculares durante e após uma necrose pulpar, de participar da infecção radicular e, em último caso, de penetrar os tecidos periapicais (SUNDQVIST, 1994). Entretanto, as bactérias presentes nos canais radiculares infectados incluem um grupo restrito de bactérias (aproximadamente 150 espécies), quando comparadas com a flora total da cavidade oral (GOMES *et al.*, 2004). Isso implica que pressões seletivas existentes dentro do canal permitem a sobrevivência de poucos grupos bacterianos (SUNDQVIST, 1994).

Miller foi um dos primeiros pesquisadores a estudar a microbiologia dos canais radiculares. Em 1894, realizou um estudo, examinando restos necróticos pulpares e observando uma extensa variedade de bactérias. Sugeriu que a microbiota existente na câmara pulpar seria diferente da microbiota dos canais radiculares, em dentes cuja câmara pulpar encontrava-se exposta à cavidade oral. Em seus experimentos, revelou que uma pequena quantidade das bactérias encontradas pode ser cultivada e previu que a maioria das bactérias encontradas nos canais radiculares infectados seria de difícil cultivo. Essa afirmação de Miller, há mais de 100 anos, mostrou-se uma verdade, e, apenas recentemente, foram desenvolvidas tecnologias que permitiram o cultivo dessas bactérias. O grande avanço das pesquisas nessa área veio quando técnicas de anaerobiose estrita foram desenvolvidas, protegendo assim as bactérias da exposição de oxigênio durante as várias fases laboratoriais. Quando essas técnicas foram aplicadas em amostras retiradas dos canais radiculares, foi encontrado que as bactérias anaeróbias obrigatórias dominavam a infecção dos canais radiculares e podiam fazer parte de até 90% da flora radicular (SUNDQVIST, 1994).

Sundqvist (1994), em um estudo sobre a taxonomia da flora dos canais radiculares, verificou que a espécie mais frequentemente isolada foi o *Fusobacterium nucleatum*, e peptoestreptococos foi o grupo bacteriano mais comumente encontrado. *Peptostreptococcus micros* e *Peptostreptococcus anaerobius* foram encontrados geralmente juntos e estavam presentes em um terço dos canais. Dos bacilos pretos-pigmentados, *Prevotella intermedia* foi a bactéria mais comum, encontrada em 34% dos canais. Este último achado é de significativa importância clínica, uma vez que os bacilos preto-pigmentos

(*Prevotella sp.* e *Porphyromonas sp.*) são bactérias gram-negativas e, portanto, apresentam um elevado grau de patogenicidade. O autor concluiu que a flora do canal radicular é dominada por bactérias anaeróbias, e que um grupo restrito está regularmente presente na infecção radicular. Bactérias anaeróbias facultativas, como os estreptococos, têm uma participação significativa na flora, especialmente na câmara coronária de dentes expostos à cavidade oral por cárie.

Gomes *et al.* (2004) realizaram um estudo com o objetivo de investigar os microorganismos mais comumente isolados dos canais com infecções endodônticas primárias e secundárias e a associação das espécies constituintes com sinais e sintomas clínicos específicos. Utilizando cones de papel absorvente, o material intrarradicular de 60 canais (41 canais com infecção primária e 19 canais com necessidade de retratamento) foi coletado. O material coletado foi encaminhado para o laboratório de microbiologia para realização da identificação bacteriana. As espécies foram identificadas através da caracterização das colônias, de teste de coloração de gram, de teste de produção da catalase e através de kits de identificação bacteriana específicos para cada grupo microbiano. Os gêneros bacterianos mais frequentemente encontrados foram *Peptostreptococcus* (58,3%), *Streptococcus* (53,3%), *Fusobacterium* (33,3%), *Prevotella* (31,7%), *Enterococcus* (13,3%), *Gemella* (13,3%) e *Staphylococcus* (13,3%). Sintomas agudos de dor, história de dor prévia, dor à percussão e inchaço foram associados às espécies gram-negativas, especialmente as do gênero *Prevotella*, *Porphyromonas* e *Fusobacterium*. *P. micros*, coco gram-positivo, também foi associado a esses sintomas, assim como também à presença do chamado “canal úmido”. Diferenças foram encontradas na composição bacteriana dos canais radiculares com infecções primárias e secundárias. A microflora dos canais radiculares de dentes com infecção primária era mista, com microorganismos gram-positivos e gram-negativos e, na sua maioria, anaeróbios. Mais de três espécies diferentes por canal foram encontradas. Já nos canais com necessidade de retratamento, bactérias anaeróbias facultativas e bactérias gram-positivas foram predominantes. Uma (1) a duas espécies foram encontradas em cada canal.

Muitos microorganismos anaeróbios continuam sendo de difícil cultivo e identificação. Recentemente, métodos de genética molecular têm sido utilizados para identificar os microorganismos nas infecções endodônticas. Estes métodos permitem a detecção de espécies microbianas diretamente de amostras clínicas, sem a necessidade de cultivo. A reação da cadeia de polimerase (PCR) vem sendo usada com esse fim. O PCR é um

método bastante sensível e permite uma identificação real das espécies ou cepas microbianas que são difíceis ou até impossíveis de serem cultivadas (SIQUEIRA JUNIOR, 2002).

Um dos primeiros estudos a utilizar o método PCR para identificação das bactérias nos canais radiculares de dentes infectados foi o de Jung *et al.* (2000). Com o intuito de identificar as bactérias mais comumente encontradas em canais radiculares de dentes permanentes com infecção pulpar e correlacionar estes achados com sinais e sintomas clínicos, os autores utilizaram 38 dentes uniradiculares, entre os quais 18 foram classificados como sintomáticos e 20 como assintomáticos. As espécies mais frequentemente isoladas foram *Fusobacterium sp.* (68,4%), *P. micros* (44,7%) e *P. gingivalis* (26,3%). Os autores concluíram que *P.gingivalis*, *Treponema sp.* e *P. intermedia* estavam fortemente associadas a algum tipo de sintomatologia.

Utilizando o método de identificação PCR, Cogulu *et al.* (2008) realizaram coletas intrarradiculares em 79 dentes decíduos e em 66 molares permanentes. Todos os casos foram categorizados em três grupos: (1) periodontite apical aguda, (2) periodontite apical crônica e (3) periodontite apical exacerbada. Foram classificados no grupo (1) os dentes cujos pacientes sofriam sintomas como dor à percussão ou à palpação, mas que não havia a presença de radiolucidez periapical. O grupo (2) compreendia os casos nos quais havia a presença de radiolucidez periapical, com ausência de sintomas clínicos. Pacientes que possuíam um ou mais sintomas clínicos e a presença de radiolucidez periapical foram classificados no grupo (3). Os autores observaram que as espécies mais prevalentes, em dentes permanentes, foram *E. faecalis* (20%), *P. gingivalis* (32%) e *T. denticola* (32%). Em dentes decíduos, as espécies mais prevalentes foram *P. gingivalis* (16%) e *T. denticola* (16%). Verificaram também que *T. denticola* e *E. faecalis* estavam fortemente associados à radiolucidez periapical e à história de dor. A *P.gingivalis* foi associada à dor e à percussão.

Blome *et al.* (2008), também utilizando o método PCR, realizaram coletas intrarradiculares de 28 dentes uniradiculares e 12 dentes multirradiculares, todos com evidência radiográfica de periodontite apical crônica. Os dentes foram divididos em dois grupos: (1) dentes com infecção primária, ou seja, dentes que não haviam recebido tratamento anterior e (2) dentes que necessitavam de retratamento. *P. micros* e *P. endodontalis* foram as espécies mais frequentemente detectadas em ambos os grupos. No grupo (1), os canais evidenciaram uma maior diversidade de espécies bacterianas.

No intuito de demonstrar a importância dos microorganismos na etiologia das patologias pulpares, Kakehashi, Stanley e Fitzgerald (1965) realizaram um estudo em modelo animal em que quinze animais convencionais e 21 “germ-free” tiveram os molares expostos ao meio bucal por meio de broca carbide $\frac{1}{2}$. Após 1 a 42 dias, os ratos foram mortos e o quadrante da maxila onde se realizou a exposição foi removido em bloco, processado e corado pelas técnicas hematoxilina-eosina, tricrômico de Masson e Brown e Brenn. Nos animais convencionais, após o oitavo dia, os dentes mostraram indícios de necrose pulpar com tecido inflamado crônico e formação de abscessos na região periapical. Quanto aos animais “germ-free”, dezoito sobreviveram aos procedimentos operatórios. Estes animais apresentaram os dentes com mínima inflamação pulpar, devido ao ato cirúrgico, porém com vitalidade preservada. Concluiu-se que a presença de microorganismos torna-se fator determinante em polpas necróticas expostas ao meio bucal.

Em um estudo com a mesma finalidade do trabalho descrito anteriormente, Paterson e Watts (1987), utilizando ratos como modelo experimental, estudaram, por meio da microscopia óptica, as polpas dentárias expostas ao meio bucal em animais albinos “germ-free” e convencionais. Em animais “germ-free”, em intervalos de tempo de até sete dias, a resposta inflamatória limitou-se à presença de esparsas células inflamatórias. Em intervalos mais longos, houve alta incidência de formação de barreira de tecido mineralizado sobre o remanescente pulpar, mas, em alguns espécimes, a polpa apresentava-se necrosada, provavelmente em consequência da impactação alimentar. Nos animais convencionais, a partir do segundo dia, após a exposição, pôde-se observar desde intenso infiltrado inflamatório até necrose pulpar incluindo penetração de bactérias nos túbulos dentinários. Os autores concluíram que as bactérias desempenham um papel fundamental na etiopatogenia das doenças pulpo-periapicais. Trauma mecânico isolado não resultou em processo inflamatório significativo do tecido pulpar.

O sinergismo bacteriano parece ter importância fundamental para a composição da flora bacteriana dos canais radiculares. Muitos microorganismos presentes nos canais infectados utilizam aminoácidos e peptídeos simples como fonte de energia (LOESCHE *et al.*, 1983). A atividade proteolítica e enzimática de algumas bactérias pode ser bastante importante nesse sentido. O *Peptostreptococcus micros*, por exemplo, através da atividade de suas peptidases, é capaz de produzir aminoácidos e peptídeos, que são utilizados como fonte de energia para o próprio *P. micros*, mas também por outras bactérias que possuem pequena

atividade proteolítica (ter STEEG; van der HOEVEN, 1989). Os bacilos pretos-pigmentados são exemplos de bactérias que possuem necessidades nutricionais bem específicas: vitamina K e hemina. A vitamina K pode ser produzida por outras bactérias e a hemina é obtida através da quebra da hemoglobina, mas algumas bactérias são capazes de produzir hemina. Pesquisas mostram que o *C.rectus* é capaz de estimular o crescimento de *Porphyromonas sp* a partir da produção de hemina (GRENIER; MAYRAND, 1986; SUNDQVIST, 1994).

A patogenicidade da flora bacteriana dos canais radiculares também está diretamente relacionada ao sinergismo bacteriano. Nos estudos de Fabricius *et al.* (1982), bactérias originalmente isoladas de canais radiculares de macacos foram inoculadas separadamente e combinadas nos canais radiculares de outros macacos. A sobrevivência da bactéria e a sua capacidade de promover lesão periapical foram avaliadas. Uma reação periapical leve e pequenas lesões periapicais ocorreram quando as cepas foram inoculadas separadamente, porém reação periapical mais severa foi observada quando as bactérias foram inoculadas combinadas. Quando a cepa *Prevotella oralis* foi inoculada separadamente, ela foi incapaz de sobreviver no canal radicular. Por outro lado, a cepa sobreviveu e dominou o estabelecimento da flora quando inoculada com outras bactérias.

Objetivando identificar bactérias associadas com abscesso periapical em crianças, Brook, Stephen e Raymond (1981) estudaram o conteúdo aspirado de abscesso periapical de 12 dentes portadores de necrose pulpar em pacientes com idade entre 5 e 16 anos. Foram isolados anaeróbios em todos os espécimes; em oito pacientes (67%), foram encontrados somente anaeróbios e, em quatro pacientes (33%), encontraram-se anaeróbios e aeróbios. Entre os anaeróbios, foram detectadas 20 espécies de *Bacteroides*, 17 cocos Gram-positivos anaeróbios, cinco espécies de *Fusobacterium* e sete bacilos Gram-positivos. Quanto às espécies bacterianas aeróbias isoladas, foram detectadas três espécies de *Streptococcus salivarius*: duas espécies *Streptococcus* alfa hemolíticos e uma (1) espécie de *Streptococcus* gama hemolítico. Os autores concluíram que os organismos anaeróbios têm papel fundamental na etiologia polimicrobiana de abscessos periapicais em crianças.

Yoshida *et al.* (1987) estudaram as correlações entre os sintomas clínicos de lesões periapicais e a distribuição de bactérias isoladas dos canais radiculares de dentes permanentes com polpa necrosada. Observaram que dor espontânea, dor à percussão e à exsudação estavam associadas à *Eubacterium*, *Bacteroides* e espécies de *Peptostreptococcus* e *Peptococcus magnus*; dor à percussão sem dor espontânea foi associada à *Peptococcus*

magnus, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Actinomyces* e espécies de *Bacteroides*. Nos dentes que apresentaram dor à percussão sem dor espontânea e presença de exsudato, as bactérias facultativas foram predominantes. Os autores concluíram que o crescimento de espécies bacterianas nos canais radiculares com polpa necrótica relaciona-se com a presença de sintomas clínicos, especialmente as espécies anaeróbias.

Hashioka *et al.* (1994) realizaram estudo bacteriológico por meio de procedimentos de cultura em condições anaeróbias em 28 canais radiculares de pacientes com periodontite apical, com o intuito de correlacionar os sintomas clínicos com a composição da microbiota de canais infectados e ainda com a atividade enzimática das bactérias. De acordo com os sintomas, os pacientes foram divididos em três grupos: (1) dor espontânea e à percussão, (2) dor à percussão e (3) assintomáticos. As bactérias com atividade colagenolítica foram isoladas de canais com sintomas clínicos agudos, subagudos ou crônicos, e as bactérias com hialuronidase foram isoladas de canais com sintomas clínicos agudos ou subagudos. A proporção de bactérias com atividade colagenolítica nas amostras dos canais radiculares foi de 83% nos canais com área radiolúcida acima de 5mm de diâmetro e 60% nos canais abaixo de 5mm de diâmetro. Os autores sugerem que bactérias com atividade enzimática como a colagenase, condroitinase e hialuronidase têm um importante papel nos sintomas clínicos subagudos envolvendo dor à percussão.

Com a finalidade de demonstrar as relações existentes entre a microbiota de canais radiculares infectados e a presença de sinais e sintomas clínicos, Gomes, Lilley e Drucker (1996a) realizaram um estudo bacteriológico e verificaram que havia presença de anaeróbios em 70% dos canais sintomáticos e em 30% dos canais assintomáticos. As espécies de *Prevotella* ou *Peptostreptococci* estavam associadas à dor espontânea ($p < 0,01$) e dor à percussão estava associada à presença de *Prevotella* ($p < 0,01$) ou anaeróbios ($p < 0,05$). Edema estava associado às espécies de *Eubacterium*.

Com o intuito de determinar a composição bacteriana de abscessos de origem endodôntica, Khemalelakul *et al.* (2002) selecionaram 17 pacientes com inchaços periodontais ou faciais, associado a sinais ou sintomas de febre e linfadenopatia. A identificação dos microorganismos foi baseada nos seus crescimentos em câmeras da anaerobiose e incubadoras aeróbicas com 5% de CO₂, pigmentação da colônia, morfologia da colônia, resultado da coloração de gram e testes bioquímicos. Os organismos cultivados que não puderam ser identificados pelos métodos convencionais foram identificados usando

métodos de sequenciamento de DNA (PCR). Um total de 127 cepas bacterianas foi isolado. Dentre as cepas isoladas, 63% correspondiam a microorganismos anaeróbios e 37% eram aeróbios. Espécies de *Prevotella*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* e *Peptostreptococcus* foram as mais comumente isoladas. Os autores concluíram que nos abscessos de origem endodôntica existe uma infecção mista com predominância de microorganismos anaeróbios.

Os microorganismos gram-negativos, além de possuírem diferentes fatores de virulência, geram produtos e subprodutos tóxicos aos tecidos apicais e periapicais e contêm em sua parede celular as endotoxinas constituídas de lipopolissacarídeos (LPS) que, segundo Gomes, Lilley e Drucker (1996b), são de fundamental importância clínica, pois liberadas durante o crescimento bacteriano, ou após a morte da célula, ativam a liberação de bradicinina que é um potente mediador da dor e conduzem à resposta inflamatória e reabsorção óssea na região periapical.

A toxicidade das endotoxinas bacterianas está situada no lipídio A, que provoca o aumento da permeabilidade vascular, quimiotaxia para neutrófilos e macrófagos, liberação de lisozimas e linfocinas, degranulação de mastócitos, opsonização bacteriana, estimulando a reabsorção óssea, injúria às plaquetas e ativação do sistema complemento. (RIETSCHEL; BRADE, 1992; LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 1999).

Além da toxicidade gerada pela liberação de LPS, os bacilos pretos-pigmentados possuem outros fatores que acarretam grande patogenicidade. Essas bactérias são capazes de produzir enzimas que podem estar envolvidas na reabsorção óssea e destruição tecidual. Algumas enzimas têm a capacidade de degradar ou inativar as proteínas do plasma humano envolvidas na defesa do hospedeiro. A capacidade de *P.endodontalis*, de *P.gingivalis*, de *P. intermédia* e de *P. loescheii* em degradar imunoglobulinas e o fator do sistema complemento C3 é significativo porque eles podem impedir o processo de fagocitose que as imunoglobulinas possuem, e o fator C3 é uma importante opsonina (KILLIAN, 1981; SUNDQVIST *et al.*, 1985).

2.1.1 Microbiologia dos canais radiculares de dentes decíduos

Apesar do estudo das bactérias presentes na infecção radicular de dentes permanentes ter se iniciado há mais de 100 anos (MILLER, 1894), apenas em 1960 foi publicado o primeiro estudo sobre esse assunto em dentes decíduos. Nesse trabalho, Cohen,

Joress e Calisti (1960) realizaram um estudo bacteriológico em molares decíduos necrosados de 30 crianças entre 04 e 08 anos de idade. Todos os dentes selecionados mostraram destruição óssea na região de furca e em alguns casos presença de fístula. O material para análise foi coletado através de um penso de algodão estéril que foi introduzido no assoalho da câmara pulpar por 1 (um) minuto. A partir de subculturas em aero e anaerobiose, verificaram que *Streptococcus salivarius* foram encontrados em 70% das amostras. Os autores ressaltam que a incidência de *S. salivarius* encontrada foi bem maior do que a relatada por outros autores em estudos em dentes permanentes. Uma vez que o *S. salivarius* é um habitante normal da cavidade oral, os autores concluíram que a prática de manter aberto dente decíduo infectado na boca de crianças é condenável.

Marsh e Largent (1967) realizaram um estudo semelhante ao estudo de Cohen, Joress e Calisti (1960), porém utilizaram cones de papel para a coleta do material intrarradicular e jarras contendo uma mistura de 95% de gás hidrogênio e 5% de dióxido de carbono para o cultivo de microorganismos em anaerobiose. As bactérias predominantes foram os estreptococos alfa hemolíticos, encontrados em 50% dos espécimes, seguidos dos estreptococos gama, encontrados em 41% das amostras. Em 36% dos casos foram encontrados cocos anaeróbios, e bacteróides foram observados em 14% dos espécimes. Os autores também verificaram que os dentes maxilares e mandibulares mostram índices similares de bactérias, embora estreptococos beta tenham sido encontrados em maior frequência em dentes maxilares e *Staphylococcus albus* e *Staphylococcus aureus* foram encontrados mais frequentemente em dentes mandibulares. Os autores acrescentam que, apesar de evidências clínicas darem suporte ao uso de agentes antibacterianos no interior do canal, mais estudos são necessários para estabelecer uma base científica ao tratamento.

Com o objetivo de verificar as condições microscópicas da polpa e a localização de microorganismos causadores de infecção, Hobson (1970) desenvolveu um estudo em que a amostra foi dividida em três grupos: (1) dentes com ausência de cárie extraídos para fins ortodônticos, (2) dentes com ausência de cárie que esfoliaram normalmente e (3) dentes com lesão de cárie e alterações pulpares. Os elementos após serem extraídos ou esfoliados foram preparados, seccionados longitudinalmente e corados pela técnica hematoxilina-eosina e pela técnica de coloração de Gram. Dos 93 dentes cariados extraídos, 32 espécimes demonstraram áreas reabsorvidas na parede do canal radicular e 26 apresentaram tecido necrosado na polpa coronária e radicular. Em todos os casos em que se observou a penetração de bactérias dentro

dos túbulos (17 casos), a polpa estava necrosada. A infiltração de microrganismos dentro dos túbulos na região do assoalho da câmara pulpar de molares sugere que há uma invasão das toxinas à área inter-radicular, explicando a típica imagem radiolúcida encontrada nos molares decíduos. Os autores concluíram que, no tratamento da infecção radicular de dentes decíduos necrosados, o emprego de drogas antibacterianas com capacidade de penetração nos túbulos e tecidos é de fundamental importância.

Ao estudar a presença de microrganismos e suas enzimas na cavidade pulpar de 110 molares decíduos humanos cariados, infectados e com ausência de lesão periapical por meio de procedimentos de cultura em condições aeróbias e anaeróbias, Edward e Nord (1972) detectaram em 80 espécimes a presença de microrganismos. Noventa e seis cepas bacterianas diferentes foram isoladas. Os microrganismos mais frequentes foram *Streptococcus mitis*, seguidos pelos *Micrococci*, *Peptostreptococci*, *Streptococcus faecalis* e *Lactobacillus*. Cerca de 19% dos microrganismos isolados foram anaeróbios. Quanto à presença de enzimas, 30% dos *Streptococcus mitis* e algumas *Corynebacteria* produziram hialuronidase; gelatinase e atividade caseinolítica foram identificadas com *Streptococcus faecalis*; chitinase e atividade bacteriolítica foram associadas ao *Micrococci* e desoxyribonuclease foi identificada com *Streptococcus mitis*.

O conteúdo do canal radicular de nove molares decíduos humanos com lesão periapical foi analisado bacteriologicamente em condições anaeróbias por Toyoshima *et al.* (1988). Os resultados permitiram observar a presença de bactérias em sete espécimes. Em quatro casos, detectou-se radiograficamente o deslocamento do germe do dente permanente, sendo observado um maior número de bactérias isoladas. Houve predomínio de anaeróbios estritos, bacilos Gram-negativos e Gram-positivos e cocos Gram-positivos; os espécimes mais frequentes foram: *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus* anaeróbios, *Eubacterium* e *Streptococcus* facultativos. Nos espécimes em que houve o deslocamento do germe do permanente, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* e *Eubacterium* foram dominantes. Os autores concluíram que anaeróbios como *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* e *Eubacterium*, assim como em lesões periapicais de adultos, podem exibir um papel fundamental na progressão das lesões periapicais em dentes decíduos.

Com o intuito de avaliar a prevalência de microrganismos nos canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar e lesão periapical, Pazelli *et al.* (2003) realizaram um estudo cujo material intra-radicular de 18 dentes decíduos (31 canais) foi coletado e

processado microbiologicamente. Os autores verificaram a presença de microorganismos anaeróbios em 96,8% dos canais e a presença de bacilos pretos-pigmentados em 35,5% das amostras. Estreptococos estavam presentes em 96,8% dos canais e *Streptococcus mutans* em 48,4%. Silva *et al.* (2006), em um estudo semelhante, utilizaram coletas intra-radulares de 20 dentes decíduos (7 incisivos e 13 molares) e observaram a presença de microorganismos anaeróbios em 100% dos casos e bacilos pretos-pigmentados em 30% destes. Microorganismos aeróbios estavam presentes em 60% dos canais. Estreptococos estavam presentes em 85% das amostras, e a espécie *Streptococcus mutans* estava em 30% dos canais.

Ruvière *et al.* (2007), por meio da hibridização DNA-DNA, estudaram a prevalência de microorganismos em dentes decíduos com pulpíte irreversível e necrose pulpar. Foi observado que a espécie predominante foi o *Campylobacter rectus* (87%), seguido da *Gemella morbilorum* (78%) e *Streptococcus gordonii* (71%). Também foi verificada uma maior quantidade de bactérias no grupo de dentes que apresentavam necrose pulpar, quando comparados aos dentes com pulpíte irreversível. Foi concluído que a infecção radicular de dentes decíduos é composta de (1) Microorganismo anaeróbio estrito e facultativo, (2) bacilos pretos-pigmentados e (3) estreptococos.

2.2 Tratamento endodôntico de dentes decíduos

2.2.1 Anatomia dos canais radiculares

Os canais radiculares dos dentes decíduos anteriores são relativamente simples, possuem poucas irregularidades e são facilmente tratados endodonticamente (GOERIG; CAMP, 1983). Já o sistema de canais radiculares encontrados nos molares decíduos frequentemente contém muitas ramificações e deltas entre os canais, dificultando o debridamento dos mesmos (HIBBARD; IRELAND, 1957; BAKER *et al.*, 1975).

Hibbard e Ireland (1957) realizaram um estudo clássico sobre a morfologia dos canais radiculares dos dentes decíduos, removendo a polpa de dentes extraídos, inserindo resina acrílica no interior dos canais e dissolvendo a estrutura dentária em ácido cítrico a 10%. Verificaram que a morfologia dos canais radiculares está em conformidade com o formato externo da raiz. Os autores observaram que as variações na forma do canal radicular eram mais pronunciadas naqueles dentes que mostraram evidência de reabsorção radicular do que naqueles em que não havia sinais de reabsorção. Não foi um achado incomum a fusão das

raízes distovestibular e palatina nos molares decíduos maxilares. Quando esta fusão acontecia, os canais das respectivas raízes também se encontravam fusionados. Entretanto, a extensão da fusão era variável. Os autores também concluíram que o canal mesial dos molares mandibulares decíduos e o canal mesiovestibular dos molares maxilares decíduos foram os que apresentaram o maior número de variações, quando comparados com os canais distais e distovestibular dos respectivos dentes.

Em estudo semelhante ao descrito anteriormente, Baker *et al.*, (1975) realizaram um estudo com o objetivo de investigar a anatomia radicular dos dentes decíduos, utilizando para este fim a técnica de injeção de resina epóxica. Os autores, dentre vários achados, observaram que os molares decíduos maxilares apresentaram de dois a cinco canais, com a raiz palatina usualmente maior e mais redonda que as raízes vestibulares. Na raiz mesiovestibular, dois canais foram encontrados nos 1^{os} molares decíduos em 75% dos casos e nos 2^{os} molares decíduos em 85% dos casos. Com relação aos 1^{os} e 2^{os} molares decíduos mandibulares, os autores verificaram que os mesmos apresentaram de dois a cinco canais. Aproximadamente 75% e 85% das raízes mesiais dos 1^{os} e 2^{os} molares decíduos apresentaram dois canais e apenas 25% das raízes distais de 1^{os} e 2^{os} molares decíduos possuíam dois canais. A deposição de dentina secundária produz variações e alterações no número e tamanho dos canais radiculares (IRELAND, 1941; BEVELANDER; BENZER, 1943), explicando o grande número de raízes com mais de um (1) canal observado por Baker *et al.*, (1975)

2.2.2 Pulpectomia

A presença de patologias pulpares envolvendo dentes decíduos continua sendo um problema comum no Brasil (BRASIL, 2003). Dentre as diversas modalidades de tratamento, a pulpectomia está indicada para dentes decíduos com exposição pulpar por cárie em que, após a amputação da polpa coronária, a polpa radicular exibe sinais de hiperemia ou dentes, com ou sem envolvimento por cárie, com evidência de necrose pulpar (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY, 2009). A pulpectomia deve sempre ser considerada como alternativa de tratamento em detrimento à realização da exodontia, haja vista que a preservação do dente decíduo até o momento de sua esfoliação fisiológica auxilia na função mastigatória, mantém o tempo de erupção normal do dente sucessor permanente, previne uma

postura inadequada da língua e possíveis problemas fonoaudiológicos, além de trazer benefícios estéticos (GOERIG; CAMP, 1983).

O procedimento dito pulpectomia envolve o debridamento e alargamento dos canais com limas manuais ou instrumentos rotatórios de tamanho gradativamente maiores e posterior obturação dos canais (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY, 2009). Os materiais usados para a obturação de dentes decíduos devem ser passíveis de reabsorção para, assim, não interferir na erupção do dente permanente sucessor. A obturação com guta-percha é contra-indicada para dentes decíduos, exceto nos casos em que não há dente permanente sucessor (KUBOTA; GOLDEN; PENUGONDA, 1992).

Os índices de sucesso da pulpectomia são extremamente altos. Estudos têm relatado taxas de sucesso de 77,7% a 99% (RABINOWITCH, 1953; ANDREW, 1955; COLL; SADRIAN, 1996; WEIGER *et al.*, 2000; FIELD *et al.*, 2004; MOSKOVITZ; SAMARA; HOLAN, 2005; IMURA *et al.*, 2007). Porém, a técnica possui contra-indicações. Quando o processo infeccioso não pode ser contido pelos métodos existentes de tratamento, o osso de suporte está seriamente comprometido, a estrutura dental remanescente não é adequada para o processo de restauração ou um excesso de reabsorção patológica está presente (envolvendo mais de um terço da raiz); nesse caso a extração dentária deve ser considerada (GOERIG; CAMP, 1983).

Coll e Sadrian (1996) observaram em seu estudo os fatores que influenciam no sucesso da terapia endodôntica e as consequências no dente permanente sucessor. Os autores verificaram que defeitos no esmalte estavam presentes em 18,7% dos dentes permanentes sucessores e que estes defeitos estavam relacionados a uma extensa reabsorção patológica do dente decíduo correspondente. Em 20% dos casos, ocorreu uma alteração no padrão de erupção do incisivo permanente sucessor e, em 21,6% dos casos, ocorreu uma erupção ectópica de pré-molares.

2.2.3 O uso da medicação intracanal

A base do tratamento endodôntico depende da identificação e eliminação dos fatores causais do desenvolvimento da periodontite apical. Logo, o objetivo primário do tratamento é eliminar as bactérias e suas fontes de nutrientes. O uso da medicação intracanal tem sido defendido como meio para eliminar bactérias remanescentes após a instrumentação e irrigação. Muitos medicamentos têm sido utilizados como medicação intracanal e, de acordo com suas propriedades químicas, podem ser divididos em derivados fenólicos (eugenol,

paramonoclorofenol canforado, fenol canforado), aldeídos (formocresol), halógenos (iodo), hidróxido de cálcio, antibióticos e várias combinações (LAW; MESSER, 2004).

Adicionalmente ao efeito de eliminar bactérias remanescentes no canal após a instrumentação, a medicação intracanal também age como barreira físico-química, não permitindo a proliferação de microorganismos residuais e prevenindo a reinfecção dos canais por bactérias da cavidade oral (SIQUEIRA JUNIOR, 1997).

2.2.3.1 Hidróxido de cálcio

O hidróxido de cálcio $[Ca(OH)_2]$ é um pó branco, inodoro, cujo peso molecular é 74,08. Esta substância, extremamente alcalina, é classificada quimicamente como base forte com um pH de aproximadamente 12,5. Apresenta baixa solubilidade em água (aproximadamente 1,2g/L a 25°C) e é insolúvel em álcool. Esta baixa solubilidade pode ser considerada uma boa característica clínica, uma vez que o mesmo permanece no interior dos canais em contato com os tecidos vitais por longos períodos antes de se dissolver (FAVA; SAUDERS, 1999). O hidróxido de cálcio, em solução aquosa, dissocia-se em cálcio e íons hidroxila, e várias propriedades biológicas são atribuídas ao cálcio e a esses íons, tais como atividade antimicrobiana (BYSTRÖM *et al.*, 1985), habilidade de dissolver tecidos (HASSELGREN *et al.*, 1988; ANDERSEN *et al.* 1992), inibição da reabsorção radicular (TRONSTAD, 1988) e indução de reparo pela formação de tecido duro (FOREMAN ; BARNES, 1990).

Segundo Heithersay (1975), a maioria dos patógenos presentes nas infecções dos canais radiculares é incapaz de sobreviver no ambiente altamente alcalino promovido pelo hidróxido de cálcio. Freeman e Capo (1982) afirmaram que os íons hidroxila são radicais livres oxidantes que mostram extrema reatividade, reagindo com várias biomoléculas. Estes íons promovem danos à membrana citoplasmática das bactérias a partir da peroxidação lipídica, resultando na destruição dos fosfolípidos da membrana. Os íons hidroxila removem átomos de hidrogênio de ácidos graxos insaturados formando, assim, radicais livres. Estes, por sua vez, reagem com o oxigênio, resultando na formação de radicais peróxidos, que irão promover a peroxidação lipídica da membrana (HALLIWELL, 1987; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 1999).

Os íons hidroxila também promovem desnaturação das proteínas bacterianas, uma vez que a alcalinização promovida pelo hidróxido de cálcio induz a quebra de pontes iônicas

que mantém a estrutura terciária das proteínas (SIQUEIRA; LOPES, 1999). Como consequência, as enzimas mantêm sua estrutura covalente, mas a cadeia polipeptídica é randomicamente desvencilhada em conformações espaciais variáveis e irregulares. Estas mudanças frequentemente resultam em perda da atividade biológica enzimática e alterações no metabolismo celular (VOET; VOET, 1995). Além da desnaturação proteica, os íons hidroxila também causam danos ao DNA, pois, ao reagirem com o mesmo, induzem a “rachaduras” nas hélices da molécula. Genes são perdidos, a replicação do DNA é inibida e a atividade celular é alterada (IMLAY; LINN, 1988).

Segura *et al.* (1997) verificaram que o hidróxido de cálcio inibe a função dos macrófagos pela diminuição da sua capacidade de aderência ao substrato, reduzindo as reações inflamatórias nos tecidos periapicais e agindo como indutor de mineralização. Além disso, o hidróxido de cálcio é capaz de hidrolizar as ligações ésteres dos ácidos graxos presentes nos lipopolissacarídeos (LPS), neutralizando-as pela remoção de ácidos graxos esterificados, alterando sua conformação química (SAFAVI; NICHOLS, 1993).

Contudo, Barthel *et al.* (1997) observaram que a capacidade de neutralização da endotoxina pelo hidróxido de cálcio é dose dependente e que o aumento da concentração de LPS é capaz de exaurir o efeito inibitório do medicamento. Portanto, um elevado nível de LPS, no sistema de canais radiculares e túbulos dentinários, justifica a necessidade clínica de trocas de hidróxido de cálcio, para a obtenção do efeito desejável.

Para uma ação efetiva do hidróxido de cálcio como medicação intracanal, os íons hidroxila devem ser capazes de se difundirem através da dentina e de tecidos pulparem remanescentes. Alguns estudos revelaram que os íons hidroxila derivados do hidróxido de cálcio difundem-se através da dentina radicular. Tronstad *et al.* (1981), em um estudo em macacos, observaram que o pH da dentina foi elevado após a utilização do hidróxido de cálcio como medicação intracanal por 4 semanas. Entretanto, os autores observaram que os valores de pH diminuía à medida que áreas mais distantes do canal radicular eram analisadas. No interior do canal radicular, foram encontrados níveis de pH maiores que 12,2. Na dentina circunjacente, ou seja, em contato direto com o hidróxido de cálcio, níveis de pH variando de 8 a 11 foram verificados. Na dentina mais periférica, os níveis de pH observados variaram de 7,4 a 9,6.

Nerwich, Fiqdor e Messer (1993) com o intuito de analisar as mudanças no pH após o uso do hidróxido de cálcio como medicação intracanal, utilizaram canais de dentes

humanos extraídos que foram instrumentados e que, subsequentemente, receberam hidróxido de cálcio como medicação intracanal. As mudanças no pH da dentina radicular foram mensuradas por um período de 4 semanas com a utilização de microeletrodos em pequenas cavidades dentro e fora da dentina, nas porções cervicais e apicais. Os autores verificaram que, em poucas horas, o pH aumentou no interior da dentina, atingindo níveis de pH de 10,8 na região cervical e de 9,7 na região apical. Entretanto, no período de 1 a 7 dias após a colocação da medicação, o pH começou a diminuir, atingindo níveis de pH de 9,3 (cervical) e 9,0 (apical) após 2 a 3 semanas. Os autores concluíram que os íons hidroxila derivados do hidróxido de cálcio são capazes de se difundirem através da dentina, e que esta difusão é maior e mais rápida em níveis cervicais do que apicais.

Com relação à concentração inibitória mínima (MIC) do hidróxido de cálcio, Estrela *et al.* (2003) realizaram um estudo em que as seguintes soluções foram analisadas: hidróxido de cálcio a 1%, hidróxido de cálcio a 1% associado ao tergentol, clorexidina a 2% e hipoclorito de sódio a 1%. Utilizaram para a pesquisa cepas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* e uma cultura mista desses microorganismos. Com base em testes de diluição, os autores verificaram que a solução de hipoclorito de sódio mostrou um MIC de 0,1% para *S.aureus*, *E. faecalis*, *P.aeruginosa* e *C. albicans* e de 1% para *B.subtilis* e para a cultura mista de bactérias. A clorexidina apresentou MIC igual a 0,000002% para *S.aureus*, 0,002% *P.aeruginosa* e 0,02% para *E. faecalis*, *B.subtilis*, *C. albicans* e para a cultura mista. A solução de hidróxido de cálcio mostrou um MIC maior que 1% para todos os microorganismos testados, exceto para *P.aeruginosa*, cujo MIC foi igual a 1%. A solução de hidróxido de cálcio e de tergentol apresentou MIC de 4.5ml para *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis*, *C. albicans* e para a cultura mista. Para *E. faecalis*, o MIC foi maior que 4,5ml.

Palotta *et al.* (2007) conduziram um estudo semelhante ao de Estrela *et al.* (2003) com o intuito de determinar o MIC do hidróxido de cálcio frente aos microorganismos *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *B. fragilis*. A mínima concentração inibitória para *S. aureus*, *E. faecalis* e *B. fragilis* foi 16mg/ml. O hidróxido de cálcio não mostrou atividade contra *P. aeruginosa*.

Com o intuito de analisar a capacidade do hidróxido de cálcio em promover a redução da lesão periapical e neoformação óssea, Trope, Delano e Orstavik (1999) conduziram um estudo radiográfico utilizando o PAI (Periapical Index) como método de

avaliação. Os dentes foram tratados em uma (1) ou duas sessões, com ou sem a utilização do hidróxido de cálcio como medicação intracanal. O grupo que apresentou os melhores resultados foi o tratado em duas sessões com a utilização do hidróxido de cálcio, seguido pelo grupo tratado em apenas uma (1) sessão. O grupo que apresentou os piores resultados foi o tratado em duas sessões cujo canal permaneceu vazio.

Gencoglu e Külekçi (1992) avaliaram o efeito bactericida dos medicamentos intracanaís à base de hidróxido de cálcio (Calacept), paramonoclorofenol canforado (CPCP), Cresofene e iodeto de potássio 2% (IKI) sobre os microorganismos *Streptococcus mutans*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*. Todos os microorganismos foram destruídos por Calacept, CPCP e Cresofeno após 10 a 15 minutos. Todavia, IKI foi efetiva somente contra *P. gingivalis* e *F. nucleatum*. Os autores concluíram que, durante e após a instrumentação dos canais, os medicamentos intracanaís podem ser eficazes sobre os microorganismos residuais sobreviventes, influenciando, assim, no prognóstico da terapia endodôntica.

Faria *et al.* (2005), realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a ação antibacteriana do preparo biomecânico utilizando hipoclorito de sódio a 2,5% como solução irrigadora e da pasta de hidróxido de cálcio como medicação intracanal em canais radiculares de dentes decíduos com necrose pulpar e lesão periapical. Um total de 20 dentes participou do estudo. As coletas do material intrarradicular foram realizadas (1) após o acesso aos canais radiculares, (2) 72 horas após o preparo biomecânico dos canais e (3) após 72 horas da remoção da medicação intracanal. A medicação permaneceu no interior dos canais por um período de 30 dias. Microorganismos anaeróbios estavam presentes em 100% dos canais. Após o preparo biomecânico dos canais, os microorganismos foram totalmente eliminados em 4 casos (20% de redução). Após a aplicação do hidróxido de cálcio intracanal, entre as sessões, foi obtida uma redução de 85,7% do número microorganismos. Os autores concluíram que somente o preparo biomecânico dos canais mostrou resultados microbiológicos inferiores quando comparados com a sua associação à medicação intracanal, indicando a necessidade da aplicação da medicação intracanal entre as sessões do tratamento endodôntico dos dentes decíduos com necrose pulpar e periodontite apical.

Com o objetivo de investigar a capacidade do hidróxido de cálcio e de outras substâncias utilizadas como medicação intra-canal em prevenir a recontaminação do sistema de canais entre as sessões do tratamento endodôntico, Roach, Hatton e Gillespie (2001)

desenvolveram um estudo *in vitro* utilizando 8 incisivos maxilares humanos. Foram testados (1) a pasta de hidróxido de cálcio/metilcelulose, (2) a pasta hidróxido de cálcio/paramonoclorofenol canforado, (3) cones de hidróxido de cálcio pré-fabricados e (4) digluconato de clorexidina gel a 1%. Os autores verificaram que as pastas de hidróxido de cálcio, com metilcelulose ou paramonoclorofenol canforado, inibiram a recontaminação por *Enterococcus faecalis* por mais tempo que as outras substâncias testadas.

Law e Messer (2004), em uma revisão sistemática da literatura sobre a efetividade antibacteriana da medicação intracanal, analisaram cinco estudos que utilizaram hidróxido de cálcio como medicação. Os cinco estudos analisados foram selecionados após a aplicação de critérios de inclusão e exclusão. Os autores concluíram que as evidências científicas mostram que não é possível que os canais radiculares fiquem livres de bactérias após o tratamento em 100% dos casos. Entretanto, é essencial reduzir a flora microbiana ao menor nível possível para assegurar o sucesso do tratamento. Os autores sugerem a utilização do hidróxido de cálcio como medicação intracanal por um período mínimo de 7 dias com o intuito de maximizar a redução bacteriana.

Apesar dos estudos descritos anteriormente terem demonstrado uma ação antimicrobiana efetiva do hidróxido de cálcio como medicação intracanal, muitos estudos atestaram a ineficácia do hidróxido de cálcio em eliminar bactérias dentro dos túbulos dentinários.

Haapasalo e Ørstavik (1987) realizaram um estudo *in vitro* com a finalidade de desenvolver um modelo para a infecção dos túbulos dentinários que permitisse testar a utilização das medicações intracanaís. Utilizaram discos de dentina de incisivos bovinos, e o microorganismo *Enterococcus faecalis* foi o escolhido para contaminação dos discos. Espécimes infectadas por três semanas foram usadas para testar os seguintes medicamentos: hidróxido de cálcio (Calasept®) e paramonoclorofenol canforado (PMCC). Os discos de dentina com os medicamentos já aplicados foram incubados por intervalos de tempo que variaram de 5 minutos a 10 dias. O PMCC foi fortemente efetivo na primeira hora, porém a completa desinfecção só foi obtida após um (1) dia. Em contraste, o tratamento com Calasept® falhou em eliminar *E. faecalis*, mesmo nas zonas de dentina mais superficiais.

Em outro estudo semelhante, porém utilizando dentes humanos, Safavi, Spangberg e Langeland (1990) infectaram túbulos dentinários das paredes dos canais radiculares com o microorganismo *Enterococcus faecium*. As raízes foram expostas ao

hidróxido de cálcio ou iodeto-potássio por períodos de tempo variados. Os autores verificaram que o iodeto-potássio desinfetou a dentina efetivamente. Por outro lado, bactérias permaneceram viáveis na dentina após o tratamento com hidróxido de cálcio.

Heling *et al.* (1992) conduziram um estudo para avaliar a eficácia da atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio e da clorexidina e a capacidade dessas substâncias em impedir a infecção secundária dos canais. Espécimes obtidos da dentina radicular de bois, previamente incubadas por *Enterococcus faecalis*, foram utilizados nesse experimento. A clorexidina reduziu significativamente a população bacteriana nas infecções primárias, assim como preveniu a infecção secundária dos túbulos dentinários. Hidróxido de cálcio não mostrou atividade antimicrobiana e falhou em prevenir a infecção secundária.

Com o intuito de analisar os efeitos da instrumentação, irrigação e do hidróxido de cálcio como medicação intracanal em infecções pulpares, Peters *et al.* (2002) desenvolveram um estudo *in vivo* com 43 dentes uniradiculares, todos com evidência radiográfica de lesão periapical. Os dentes foram divididos em dois grupos, no grupo 1 (22 dentes) foi realizado o tratamento endodôntico em apenas 1 sessão e no grupo 2 (21 dentes) foi realizado o tratamento endodôntico em duas sessões, utilizando a pasta hidróxido de cálcio/solução salina por 4 semanas como medicação intracanal. As coletas do material intrarradicular foram realizadas (1) após o acesso aos canais radiculares, (2) após a instrumentação e irrigação dos canais com hipoclorito de sódio a 2%, (3) após a remoção da medicação intracanal e (4) após a irrigação com o hipoclorito de sódio realizada novamente após a remoção do hidróxido de cálcio. Os autores verificaram que, no início da segunda sessão (coleta 3), as amostras do grupo 2 mostraram níveis bacterianos maiores que os níveis encontrados no final da primeira sessão (coleta 2), indicando um recrescimento bacteriano, apesar da presença da medicação intracanal e da restauração coronária. Apenas em 6 dos 21 dentes (29%) do grupo 2 não houve crescimento bacteriano após o uso do hidróxido de cálcio. Os níveis bacterianos encontrados na coleta 4 foram significativamente menores do que os encontrados na coleta 1, porém não foram diferentes estatisticamente dos encontrados na coleta 2, evidenciando que não houve redução no número de microorganismos devido ao uso do hidróxido de cálcio.

Blome *et al.* (2008) verificaram, com base no método PCR, a ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio, em um estudo clínico com 40 pacientes. As coletas das amostras foram realizadas (1) após o acesso aos canais radiculares, (2) após o preparo químico-mecânico dos canais e (3) após o uso da medicação intracanal por um período de 14 dias. Os

autores observaram que o uso do hidróxido de cálcio não acarretou em redução adicional na contagem bacteriana no interior dos canais.

Sathorn, Parashos e Messer (2007) publicaram um estudo de revisão sistemática e meta-análise sobre a eficácia antibacteriana do hidróxido de cálcio como medicação intracanal. Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, 8 estudos foram incluídos na revisão. A meta-análise aplicada no estudo permitiu verificar que não houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis bacterianos pré e pós-medicação. Os autores concluíram que, com base nas melhores evidências científicas publicadas, o hidróxido de cálcio tem eficácia limitada na eliminação de bactérias dos canais radiculares humanos.

Alguns fatores são citados na literatura na tentativa de explicar a ineficácia do hidróxido de cálcio na desinfecção dos túbulos dentinários. Um desses fatores é a capacidade que a dentina possui em anular o aumento do pH promovido pelo hidróxido de cálcio. Nerwich, Fiqdor e Messer (1993) observaram que esse efeito acontece porque na dentina existe a presença de prótons “doadores”, como o H_2PO_4^- , H_2CO_3 e HCO_3^- , que reagem com os íons hidroxil e mantêm, dessa forma, o pH inalterado. Segundo Siqueira e Uzeda (1996), a ineficácia do hidróxido de cálcio também pode ser atribuída ao arranjo das bactérias na colonização dos canais radiculares. As colônias localizadas periféricamente exerceriam um efeito protetor naquelas localizadas mais profundamente no interior dos túbulos dentinários.

Haapasalo *et al.* (2000) realizaram um estudo *in vitro* com o intuito de analisar a capacidade da dentina em anular o efeito antibacteriano do hidróxido de cálcio e de outros medicamentos usados na terapia endodôntica. O estudo foi conduzido utilizando pó de dentina obtida de terceiros molares humanos extraídos. Uma suspensão do pó de dentina em água na quantidade de 50 μL foi misturada e incubada com 50 μL dos medicamentos testados por 0, 1 e 24 horas antes de adicionar a bactéria (*Enterococcus faecalis*). Os medicamentos testados foram: (1) solução saturada de hidróxido de cálcio em água, (2) 1% de hipoclorito de sódio, (3) 0,5% e 0,05% de acetato de clorexidina e (4) solução de iodo a 0,2% e 2%. Amostras da cultura bacteriológica foram obtidas 5 minutos, 1 hora e 24 horas após a adição da bactéria. Estas amostras foram então plaqueadas para a observação do crescimento bacteriano. Os autores verificaram que o pó da dentina teve efeito inibitório em todos os medicamentos testados. O efeito foi dependente da concentração da medicação, assim como do período de tempo em que o medicamento permaneceu pré-incubado com o pó de dentina antes da adição da bactéria. Nos experimentos controles (sem a adição do pó de dentina) todos os

medicamentos foram efetivos contra *E. faecalis*. O efeito do hidróxido de cálcio na bactéria testada foi totalmente abolido na presença do pó de dentina. A solução de 0,2% de iodo também perdeu sua eficácia na presença do pó de dentina. O efeito de 0,05% de clorexidina e de 1% de hipoclorito de sódio sobre *E. faecalis* foi reduzido mas não totalmente eliminado na presença do pó de dentina. Nas soluções de clorexidina a 0,5% e de iodo a 2%, não foi verificado nenhum efeito inibitório de suas ações antibacterianas devido à presença do pó de dentina.

A respeito do período necessário para que o hidróxido de cálcio exerça atividade ótima no interior dos canais, vários estudos foram realizados e revelaram resultados controversos. Cvek, Hollender e Nord, em 1976, realizaram tratamento endodôntico em 141 incisivos permanentes sem vitalidade utilizando o hidróxido de cálcio como medicação intracanal. Coletas do material intracanal foram realizadas (1) após a extirpação do tecido pulpar necrótico, (2) após irrigação/instrumentação, (3) após um período de 3 meses de uso do hidróxido de cálcio como medicação intracanal e (4) após 6 meses de uso do hidróxido de cálcio. Apenas 8% dos canais mostraram crescimento bacteriano após 3 meses de uso da medicação intracanal.

Sjögren *et al.* (1991) avaliaram clinicamente o efeito antibacteriano do hidróxido de cálcio como medicação intracanal. A medicação permaneceu no interior dos canais por um período de 10 minutos ou 7 dias. Os resultados mostraram que o hidróxido de cálcio, por um período de 7 dias, eliminou eficientemente (100% dos casos) as bactérias que permaneceram nos canais após a instrumentação mecânica dos mesmos. A aplicação do hidróxido de cálcio por um período de 10 minutos foi inefetiva. Já Ørstavik, Kerekes e Molven (1991), em um estudo com 23 dentes com diagnóstico de periodontite apical, encontraram resultados divergentes dos relatados por Sjögren *et al.* (1991). Neste estudo, todos os dentes foram submetidos a um regime de tratamento em duas sessões, na ausência de agentes antimicrobianos e com o uso de hidróxido de cálcio como medicação intracanal por uma (1) semana. Foi observada a persistência de bactérias em 34,8% dos casos (8 dos 23 canais) em que foi utilizada a medicação por uma (1) semana.

Com o objetivo de determinar *in vitro* o tempo requerido para o hidróxido de cálcio mostrar seu efeito antimicrobiano quando em contato direto com o microorganismo, Estrela *et al.* (1998) desenvolveram um estudo utilizando cones de papel contaminados com os microorganismos *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Fusobacterium nucleatum*,

Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli* e *Streptococcus sp.*. Os cones de papel contaminados foram colocados em placas de petri e cobertos com pasta de hidróxido de cálcio, usando solução salina como veículo. Em intervalos de 0, 1, 2, 6, 12, 24, 48, 72 horas e 7 dias, dois cones eram removidos do contato com a pasta de hidróxido de cálcio e imersos em 10 mL de BHI caldo a fim de observar se ainda havia crescimento bacteriano. O hidróxido de cálcio mostrou efeito antibacteriano após 12 horas para *M. luteus* e *F. nucleatum*, 24 horas para *Streptococcus sp.*, 48 horas para *E. coli* e 72 horas para *S.aureus* e *P.aeruginosa*.

2.2.3.2 Associação hidróxido de cálcio e paramonoclorofenol canforado

Um grande número de substâncias tem sido usado como veículo para o hidróxido de cálcio. Quando é adicionado um veículo ao hidróxido de cálcio, uma pasta é formada, e esta deve possuir como componente principal o hidróxido de cálcio. Esta pasta pode ser preparada no momento do uso clínico ou pode ser vendida comercialmente já manipulada. Segundo Leonardo *et al.* (1998), as substâncias utilizadas como veículo devem melhorar a viscosidade e a radiopacidade do hidróxido de cálcio, tornar o uso clínico mais fácil e, idealmente, não devem alterar significativamente o pH do mesmo.

O veículo utilizado desempenha um papel importante na ação do hidróxido de cálcio, uma vez que o veículo pode determinar a velocidade de dissociação em cálcio e íons hidroxil. Em geral, três tipos de veículos são utilizados: aquosos, viscosos ou oleosos. O primeiro grupo é representado por substâncias solúveis em água, incluindo água, solução salina, anestésicos dentais com ou sem vasoconstrictor e suspensões aquosas de metilcelulose ou carboximetilcelulose. Quando o hidróxido de cálcio é misturado com uma dessas substâncias, o cálcio e os íons hidroxila são rapidamente liberados, causando uma rápida solubilização e reabsorção dos mesmos por macrófagos. O canal radicular torna-se vazio em curtos períodos de tempo, retardando o processo de cura. Do ponto de vista clínico, isto significa que sucessivas trocas da medicação devem ser realizadas, aumentando assim o número de sessões (FAVA, 1991). Os veículos viscosos são também substâncias solúveis em água, mas a liberação de Ca^{2+} e OH^- é mais lenta e por extensos períodos. Conferem uma baixa solubilidade à pasta quando comparados com os veículos aquosos, provavelmente devido aos seus altos pesos moleculares. Glicerina, polietilenoglicol e propileno-glicol são exemplos de veículos viscosos (LOPES *et al.*, 1996). Os veículos oleosos são substâncias não

solúveis em água que promovem uma menor solubilidade e difusão da pasta nos tecidos. Pastas contendo estes veículos podem permanecer no interior dos canais por períodos de tempo maiores que as pastas contendo veículos aquosos e viscosos. São exemplos de veículos oleosos: o óleo de oliva, o óleo de silicone, os óleos canforados (por exemplo, paramonoclorofenol canforado) e alguns ácidos graxos, como o ácido lonoleico (LOPES *et al.* 1996; FAVA; SAUNDERS, 1999). A maioria das substâncias usadas como veículo para o hidróxido de cálcio não possui atividade antibacteriana. Esse grupo inclui a água destilada, a solução salina e a glicerina. Outras substâncias, tais como o paramonoclorofenol canforado, são conhecidas por possuir essa atividade (SIQUEIRA; LOPES, 1999).

O paraclorofenol canforado, ou paramonoclorofenol canforado, compreende 33-37% de paraclorofenol e 63-67% de cânfora. O paraclorofenol (C_6H_5OCl , peso molecular 128,56) apresenta-se na forma cristalina e possui um odor fenólico característico. A cânfora ($C_{10}H_{16}O$, peso molecular 152,54) é uma cetona obtida da *Cinnamomum camphora* ou produzida sinteticamente em laboratório (FAVA; SAUNDERS, 1999). Os derivados fenólicos, tais como paramonoclorofenol canforado, fenol canforado, timol e eugenol, têm sido extensivamente utilizados na odontologia. Os componentes fenólicos possuem potente atividade antimicrobiana e a halogenização intensifica sua atividade antibacteriana. Acredita-se que o fenol aja rompendo componentes lipídicos da membrana, resultando na quebra de moléculas celulares. Em altas concentrações, os componentes fenólicos agem na precipitação de proteínas do citoplasma celular. Em baixas concentrações, agem na inativação de sistemas enzimáticos essenciais e podem também causar quebra da parede celular (O'CONNOR; RUBINO, 1991). Algumas propriedades dos componentes fenólicos, tais como baixa tensão superficial e solubilidade em lipídios, conferem uma maior penetrabilidade do medicamento. (NAUMOVICH, 1963; O'CONNOR; RUBINO, 1991).

Evidências sugerem que a associação do hidróxido de cálcio com o paramonoclorofenol canforado tem um maior espectro de ação antibacteriana e elimina bactérias mais rápido que misturas do hidróxido de cálcio com veículos inertes. Portanto, o paramonoclorofenol canforado não deve ser considerado um veículo para o hidróxido de cálcio, mas sim um medicamento adicional (SIQUEIRA; LOPES, 1999).

Com o intuito de analisar a atividade antimicrobiana da combinação hidróxido de cálcio/Paramonoclorofenol canforado e hidróxido de cálcio/solução salina nos túbulos dentinários, Siqueira e Uzeda (1996) utilizaram discos de dentina bovina experimentalmente

infectadas com *Actinomyces israelii*, *Fusobacterium nucleatum* ou *Enterococcus faecalis*. Os espécimes infectados foram expostos às referidas medicações por períodos de uma (1) hora, um (1) dia e uma (1) semana. A pasta hidróxido de cálcio/paramonoclorofenol canforado foi efetiva na eliminação das bactérias dos túbulos dentinários após o período de uma (1) hora, exceto para o microorganismo *E. faecalis*, que requereu um (1) dia de exposição para sua completa eliminação. Em contraste, a pasta hidróxido de cálcio/solução salina não foi efetiva contra *E. faecalis* e *F. nucleatum*, mesmo após uma (1) semana de exposição. Os autores concluíram que o paramonoclorofenol canforado aumenta o efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio.

Siqueira e Uzeda (1997) realizaram um estudo *in vitro* para comparar a ação antimicrobiana de várias substâncias contra espécies bacterianas comumente encontradas em canais radiculares infectados. Os medicamentos utilizados foram: (1) pasta hidróxido de cálcio/solução salina, (2) pasta hidróxido de cálcio/paramonoclorofenol canforado, (3) pasta hidróxido de cálcio/glicerina, (4) digluconato de clorexidina gel 0,12% e (5) metronidazol gel a 10%. A atividade antibacteriana dessas substâncias foi avaliada através do teste de difusão em ágar contra as seguintes espécies: *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces israelii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Propionibacterium acnes*, *Campylobacter rectus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Enterococcus faecalis* e *Actinomyces viscosus*. A pasta de hidróxido de cálcio com paramonoclorofenol canforado mostrou as maiores zonas de inibição contra todas as bactérias testadas. Clorexidina também mostrou efeito inibitório contra todas as cepas, porém não foi mais efetiva que a pasta hidróxido de cálcio/paramonoclorofenol canforado. Metronidazol foi efetivo contra todas as bactérias anaeróbias testadas, entretanto sua ação foi maior que a da pasta hidróxido de cálcio/paramonoclorofenol canforado somente contra os microorganismos *P. endodontalis* e *F. nucleatum*. Hidróxido de cálcio associado à água destilada ou glicerina foi inefetivo contra todas as cepas testadas nesse experimento.

Estrela *et al.* (2001) utilizaram dois testes *in vitro* (teste por contato direto e teste de difusão em ágar) para determinar a efetividade antimicrobiana das pastas de hidróxido de cálcio e solução salina, de hidróxido de cálcio e polietilenoglicol, e de hidróxido de cálcio e paramonoclorofenol canforado. Os microorganismos utilizados no estudo foram: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* e uma mistura destes microorganismos. Para o teste por contato direto, as

cepas foram inoculadas em 5mL do meio de cultura BHI por 24 horas e, em seguida, 288 pontas de papel absorvente foram imersas nessa suspensão por 5 minutos. As pontas de papel foram, então, colocadas em placas de petri e cobertas com um dos medicamentos citados. Em intervalos de 1, 24, 48 e 72 horas as pontas de papel eram removidas das placas de petri e imersas em uma solução própria para testes inibitórios. O crescimento bacteriano foi analisado pela turbidez do meio e posterior plaqueamento dos microorganismos em BHI ágar. Os autores verificaram que os efeitos do hidróxido de cálcio associados à solução salina e ao paramonoclorofenol canforados foram similares para todos os microorganismos quando testados separadamente, porém, hidróxido de cálcio e solução salina foram efetivos após 1 hora, enquanto hidróxido de cálcio e paramonoclorofenol canforado foi efetivo apenas após 48 horas, quando a suspensão contendo os microorganismos misturados foi testada. Para o teste de difusão em ágar foram utilizadas placas de BHI inoculadas com 0,1mL das suspensões microbianas. Cavidades de 4mm de profundidade e 4mm de diâmetro foram realizadas e as mesmas foram preenchidas com os medicamentos em questão. Após 24-48 horas, os halos de inibição foram mensurados. Todos as pastas mostram zonas de inibição variando de 5 a 10mm. Atividade estatisticamente significante foi observada com a pasta hidróxido de cálcio e solução salina para *E. faecalis*, *B. subtilis* e *C. albicans*, quando comparada à pasta de hidróxido de cálcio com polietilenoglicol ou paramonoclorofenol canforado. A pasta de hidróxido de cálcio e paramonoclorofenol canforado foi a mais efetiva contra o microorganismo *P. aeruginosa*. Todas as pastas mostraram a mesma efetividade contra a suspensão de microorganismos misturados.

Utilizando o método de difusão em ágar, Gomes *et al.* (2002) conduziram um estudo *in vitro* com o objetivo de analisar a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio, associado a vários veículos, contra diversos microorganismos (aeróbios, anaeróbios facultativos e anaeróbios estritos). Os microorganismos testados foram: *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces naeslundii*, *porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia/ nigrescens* e *Prevotella denticola*. Cada cepa foi avaliada contra pastas de hidróxido de cálcio preparadas com os seguintes veículos: (1) água destilada estéril, (2) solução salina, (3) solução anestésica à base de mepivacaína, (4) glicerina, (5) polietilenoglicol, (6) paramonoclorofenol canforado, (7) glicerina associada ao paramonoclorofenol canforado. Como controle, os veículos (sem a

associação de hidróxido de cálcio) foram testados frente aos microorganismos citados. A pasta de hidróxido de cálcio, que mostrou maior ação (maiores halos de inibição), foi aquela cujo veículo utilizado foi a associação paramonoclorofenol canforado e glicerina, seguida da pasta que utilizou apenas paramonoclorofenol canforado como veículo. A susceptibilidade individual dos microorganismos às pastas de hidróxido de cálcio foi variada. Todas as cepas testadas foram mais susceptíveis às pastas preparadas com veículos oleosos. *E.faecalis* foi o microorganismo mais resistente. Os autores concluíram que o tipo de veículo utilizado afeta a habilidade de difusão e a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio.

Estrela *et al.* (2001) conduziram um estudo *in vitro* para avaliar a influência dos veículos na ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio e encontraram resultados divergentes daqueles obtidos por Gomes *et al.* (2002). Os autores utilizaram 588 pontas de papel absorvente que foram imersas por 3 minutos em suspensões contendo os seguintes microorganismos: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*. Posteriormente, as pontas de papel foram colocadas em placas de petri e cobertas por diferentes pastas à base de hidróxido de cálcio: (1) hidróxido de cálcio/solução salina, (2) hidróxido de cálcio/paramonoclorofenol canforado, (3) hidróxido de cálcio/solução de clorexidina a 1%, (4) hidróxido de cálcio/ lauril sulfato de sódio a 3%, (5) hidróxido de cálcio/otosporin®. Em intervalos de 1 minuto, 48 horas, 72 horas e 7 dias, as pontas de papel eram removidas do contato com a medicação e colocadas em tubos contendo 5mL de meio de cultura Letheern, o que é recomendado para a realização de testes inibitórios. Os mesmos permaneceram incubados por 48 horas e o crescimento bacteriano foi observado pela turbidez do meio. As culturas positivas foram transferidas para placas de BHI ágar para a análise das colônias. Os resultados indicaram que as pastas de hidróxido de cálcio testadas tiveram ação antimicrobiana contra as suspensões microbianas (puras ou mistas). Os efeitos antimicrobianos ocorreram após 48 horas. Os veículos associados ao hidróxido de cálcio não influenciaram no tempo requerido para inativação microbiana.

Através de um estudo *in vivo*, Siqueira Júnior, Magalhães e Rôças (2007) investigaram a redução bacteriana em canais infectados e com lesão periapical após o preparo químico/mecânico dos canais usando como solução irrigadora hipoclorito de sódio a 2,5% e avaliaram a redução bacteriana adicional obtida com a utilização do hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado como medicação intracanal. Foram selecionados para participar do estudo 12 dentes (11 pacientes) que apresentavam as paredes da câmara

pulpar intactas, necrose pulpar e evidências clínicas e radiográficas de lesão periapical. Após os procedimentos de isolamento absoluto, de anti-sepsia do campo operatório e de acesso à câmara radicular, foi realizada a primeira coleta do material intra-radicular, utilizando pontas de papel absorvente. A segunda coleta foi realizada na mesma sessão, após a instrumentação dos canais e irrigação com 5mL de hipoclorito de sódio a 2,5%. A medicação intracanal foi, então, inserida nos canais, permanecendo por uma (1) semana. Após esse período, o paciente retornou à clínica, e uma terceira coleta do material intracanal foi realizada após a completa remoção da medicação intracanal. Para a análise microbiológica, as amostras foram diluídas e espalhadas em placas de Brucella Ágar enriquecidas com hemina e menadione. Placas de Mitis-salivarius Ágar também foram utilizadas. As placas foram incubadas anaerobicamente por 14 dias e, após esse período, a contagem das unidades formadoras de colônia foi realizada. Para a identificação das bactérias, utilizou-se o método PCR. Após o preparo químico-mecânico dos canais radiculares, 5 dos 11 canais (1 amostra foi excluída do estudo) mostraram culturas negativas, evidenciando ausência de crescimento bacteriano. Quando comparadas às amostras iniciais, o preparo químico-mecânico promoveu uma redução bacteriana de 84,56% a 100%. Após 7 dias de medicação intracanal com hidróxido de cálcio/paramonoclorofenol canforado, 10 dos 11 canais apresentaram-se livres de bactérias. No único caso que ainda apresentou bactérias viáveis, a redução bacteriana foi de 99,87%. Trinta espécies foram isoladas das amostras obtidas na primeira coleta. *Micromonas micros*, *Streptococcus constellatus/intermedius*, *Pseudoramibacter alactolyticus* e *Streptococcus oralis* foram as espécies mais prevalentes. Onze espécies foram isoladas das amostras da segunda coleta. *Streptococcus* foram as espécies mais encontradas. Apenas uma (1) espécie foi identificada nas amostras da terceira coleta. *P. acnes* foi isolado do único caso que apresentou cultura positiva após o uso da medicação intracanal.

Sobre a genotoxicidade dos materiais usados na terapia endodôntica como medicação intracanal, Ribeiro, Marques e Salvadori (2004) realizaram um estudo utilizando células de linfomas de ratos e fibroblastos humanos para estimar os danos ao DNA induzidas por formocresol, paramonoclorofenol e hidróxido de cálcio. As medicações foram testadas por contato direto com a cultura de células nas concentrações de 20, 40 e 80 µg/mL. O controle positivo consistia de 10µg/mL de metilmetasulfonato e o controle negativo era água destilada. Para a análise dos danos causados ao DNA, foi utilizado um sistema de análise automatizado (Comet Assay 2.2). Dois parâmetros foram analisados: momento “cauda”

(produto de DNA cauda dividido pelo total de DNA no centro de gravidade) e intensidade da “cauda” (porcentagem de DNA na cauda). Os resultados mostraram que formocresol, paramonoclorofenol e hidróxido de cálcio, em todas as concentrações testadas, não tiveram nenhum efeito detectável nos índices de genotoxicidade.

2.2.3.3 Clorexidina

A clorexidina é um catiônico sintético bisguanido que consiste em dois anéis simétricos do 4-clorofenil e dois grupos bisguanidos, conectados a uma cadeia central de hexametileno (GREENSTEIN; BERMAN; JAFFIN, 1986). É uma molécula com carga positiva, hidrofóbica e lipofílica, que interage com os fosfolipídios e lipopolissacarídeos da membrana celular bacteriana e que penetra na célula através de algum tipo de mecanismo de transporte ativo ou passivo. Sua eficácia é devido à interação da parte positiva da molécula com a parte negativa dos grupos fosfatos da parede celular microbiana, o que altera o equilíbrio osmótico celular (DYNES *et al.*, 2006). O aumento da permeabilidade da parede celular permite que a molécula de clorexidina penetre na bactéria e cause seus efeitos letais (ATHANASSIADIS; ABBOTT; WALSH, 2007). Quimicamente, a clorexidina é classificada como uma base e é estável na forma de sal. A preparação mais comum para o uso oral é o gluconato de clorexidina, solúvel em água e com pH fisiológico, que se dissocia rapidamente e libera o componente positivo da molécula (GREENSTEIN; BERMAN; JAFFIN, 1986). Em baixas concentrações, a clorexidina causa um efeito bacteriostático, mas em altas concentrações é considerada bactericida devido à precipitação e/ou coagulação de elementos citoplasmáticos (GOMES *et al.*, 2003).

Os efeitos benéficos da clorexidina são devido três propriedades dessa molécula: atividade antimicrobiana, substantividade e habilidade de inibir a aderência de certas bactérias (GRENIER, 1996). Leonardo *et al.*, em 1999, realizaram um estudo para avaliar o efeito antimicrobiano da solução de gluconato de clorexidina empregado como substância irrigadora dos canais radiculares. Pôde-se detectar, antes da biomecânica, que a porcentagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFCs) foi de 45% para *Streptococcus mutans* e 82% para anaeróbios. 48 horas após a biomecânica dos canais utilizando gluconato de clorexidina como irrigante, estes valores diminuíram para 0% e 18% para *S.mutans* e anaeróbios, respectivamente.

Por meio de testes de macrodiluição e microdiluição, Rosa *et al.* (2002) avaliaram a ação antimicrobiana de soluções de 10% de hidróxido de cálcio, 2% de digluconato de clorexidina, 35% paramonoclorofenol canforado e formocresol frente aos microorganismos *Prevotella nigrescens*, *Fusobacterium nucleatum* e *Clostridium perfringens*. Os autores verificaram que a clorexidina foi a droga mais eficiente em menores concentrações, seguida pelo paramonoclorofenol canforado, formocresol e hidróxido de cálcio, para todas as bactérias testadas.

Ferreira *et al.* (2002) realizaram um estudo *in vitro* para determinar a ação antimicrobiana (concentração inibitória mínima e mínima concentração bactericida) de diversos agentes antibacterianos: solução de 10% de hidróxido de cálcio, solução de 2% de clorexidina, 10% de óleo de rícino (*Ricinus comunis*), e paramonoclorofenol canforado. As cepas bacterianas utilizadas foram *Prevotella nigrescens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Clostridium perfringens* e *Bacteroides fragilis*. Foi observado que todos os agentes antibacterianos testados apresentaram algum grau de inibição de crescimento bacteriano, mesmo em concentrações 2 a 5 vezes menores que a concentração inibitória mínima. Os valores das mínimas concentrações inibitórias e mínimas concentrações bactericidas variaram entre 0,15ug/mL e 19,5ug/mL. A concentração entre os agentes mostrou que a clorexidina foi eficiente nas menores concentrações para todas as bactérias, seguida do óleo de rícino, paramonoclorofenol canforado e hidróxido de cálcio.

Önçağ *et al.* (2003) compararam, a partir de estudos *in vitro* e *in vivo*, a ação antibacteriana e os efeitos citotóxicos dos irrigantes utilizados na terapia endodôntica. Os materiais testados foram 5,25% de hipoclorito de sódio, 2% de gluconato de clorexidina, 0,2% de gluconato de clorexidina associado a 0,2% de cetrimida (Cetrexidin®) e 0,9% de solução salina. Para o estudo *in vitro* foram utilizados 60 dentes permanentes uniradiculares recém-extraídos que foram contaminados com *Enterococcus faecalis*. Após um período de incubação de 24 horas, os dentes foram irrigados com 2mL das soluções descritas. Coletas do material intra-radicular foram realizadas 5 minutos e 48 horas após a irrigação. Os autores observaram que, no período de 5 minutos após a irrigação, o gluconato de clorexidina a 2% foi a solução mais eficaz, com taxa de 0% de crescimento bacteriano em todas as amostras. Porém, não houve diferença estatisticamente significativa na eficácia antibacteriana da clorexidina a 2% e do Cetrexidin, e ambos foram significativamente melhores que hipoclorito de sódio a 5.25% e solução salina a 0.9%. Os resultados da coleta, 48 horas após a irrigação, mostraram que não

houve diferença estatisticamente significativa entre corexidina 2%, Cetrexidin e hipoclorito de sódio. Para o estudo *in vivo* foram selecionados 91 canais radiculares decíduos (46 pacientes) com evidência de necrose pulpar e lesão periapical. Após o acesso à câmara coronária e canais radiculares, foi realizada a primeira coleta do material intraradicular. Após a instrumentação, irrigação (com as soluções descritas anteriormente) e secagem dos canais, os mesmo foram deixados vazios por 48 horas, quando, então, a segunda coleta foi realizada. Apenas em 4 canais não foi observado crescimento bacteriano na primeira coleta. Estreptococos do grupo viridans foram encontrados em 61 canais (67,03%); bactérias anaeróbias, como *Bacteroides* sp., em 36 canais (30,9%); *Peptostreptococcus* sp., em 23 espécimes (20,52%); *Fusobacterium* sp., em 4 canais (4,03%); *Veillonella* sp., em 18 (19,16%) e *Prevotella* sp., em 14 (10,53%) dos canais radiculares. Apesar dos procedimentos de instrumentação/irrigação, foram encontradas bactérias em 48 (50,20%) dos canais na segunda coleta. Nestas amostras, estreptococos do grupo viridans foram encontrados em 7 (7,3%) dos canais; *Bacteroides* sp. foram isolados em 20 (21,9%); *Peptostreptococcus* sp. foram observados em 11 (12,02%); *Veillonella* sp. foram isolados em 13 (14,42%) e *Prevotella* sp. em 5 (5,49%) dos canais radiculares. Nas amostras obtidas do grupo irrigado com hipoclorito de sódio a 5,25% existiam significativamente ($P < 0,05$) mais bactérias anaeróbias do que nos grupos irrigados com clorexidina a 2% e com Cetrexidin. Para avaliar os efeitos citotóxicos dessas soluções, 0,1mL de cada solução foi injetada no tecido subcutâneo de ratos em 4 áreas previamente marcadas e as áreas de inflamação foram analisadas quantitativamente através da contagem de células inflamatórias (leucócitos, linfócitos e plasmócitos). Os autores observaram que nas áreas onde foi injetado hipoclorito de sódio a 5,25%, a regeneração tecidual ocorreu mais lentamente do que nas áreas onde clorexidina foi injetada. Os autores concluíram que Cetrexidin® e 2% de gluconato clorexidina possuem atividade antibacteriana mais potente e são menos tóxicos que 5,25% de hipoclorito de sódio e, por isso, devem ser preferidos como soluções irrigadoras na terapia pulpar de dentes decíduos.

Também com o intuito de analisar a atividade antibacteriana das soluções irrigadoras utilizadas na terapia endodôntica, Ercan *et al.* (2004) realizaram um estudo *in vivo* utilizando como soluções irrigadoras 2% de gluconato de clorexidina e 5,25% de hipoclorito de sódio. Foram selecionados 30 dentes uniradiculares com necrose pulpar e/ou lesão periapical para participar do estudo. As coletas do material intra-radicular foram realizadas

em três momentos: (1) após o acesso aos canais radiculares, (2) imediatamente após os procedimentos de irrigação/instrumentação e (3) 48 horas após a primeira sessão do tratamento. Na comparação entre os materiais, foi observado que o gluconato de clorexidina foi significativamente mais efetivo que hipoclorito de sódio, tanto para as amostras coletadas imediatamente após a instrumentação/irrigação, como para as amostras coletadas 48 horas após a instrumentação/irrigação.

Barthel *et al.* (2002), realizaram um estudo *in situ* para analisar a efetividade antimicrobiana da clorexidina e do hidróxido de cálcio impregnados em cones de guta-percha, comparados às suas formulações em gel e pasta, respectivamente. Para isso, dois voluntários utilizaram placas de resina acrílica em que foram colocados, na região posterior e vestibular superior, dentes humanos extraídos que haviam sido instrumentados e cujos canais estavam expostos ao meio bucal. Foram confeccionadas 15 placas, cada uma com 5 dentes. Os voluntários utilizavam cada placa por um período de 1 semana. Após o período de 1 semana, pontas de papel absorvente foram utilizadas para realizar a coleta do material intra-radicular. Após a coleta, os canais foram preenchidos com diferentes agentes antimicrobianos: clorexidina gel a 5%, pasta hidróxido de cálcio/solução salina, cones de guta-percha contendo clorexidina e cones de guta-percha contendo hidróxido de cálcio. Após a permanência desses materiais por 1 semana, uma nova coleta do material intra-radicular foi realizada. Os grupos da clorexidina gel e da pasta de hidróxido de cálcio mostraram resultados significativamente melhores que os grupos que apresentavam estes materiais incorporados a cones de guta-percha. O grupo do hidróxido de cálcio incorporado aos cones de guta foi o que mostrou os resultados menos favoráveis.

A fim de avaliar, *in vitro*, o efeito antibacteriano da clorexidina como medicação intracanal e como solução irrigadora, Lin *et al.* (2003) utilizaram 27 discos de dentina bovina de 4mm de altura e 6mm de diâmetro obtidos de incisivos bovinos extraídos. Os espécimes foram mantidos durante 21 dias em meio de cultura BHI contendo o microorganismo *Enterococcus faecalis*. A cada dois dias, o meio de cultura era trocado por um novo meio de cultura. Os espécimes foram divididos em três grupos, de acordo com a medicação intracanal recebida: (1) pontas de guta-percha, impregnadas com clorexidina (Activ Point®); (2) 10 mL de solução de clorexidina a 0,2% por 5 minutos (irrigação) e (3) controle positivo (nenhum medicamento foi utilizado). Os espécimes foram incubados por 7 dias e, após esse período, amostras de dentina foram coletadas com o auxílio de brocas. A dentina coletada foi

transferida para tubos contendo 1,5mL de meio de cultura BHI e, após os procedimentos de diluição, 0,01mL do meio for transferido para placas de BHI Ágar. Após 48 horas, foi realizada a contagem das espécies. Ambas as medicações reduziram significativamente a quantidade de bactérias do interior dos túbulos dentinários. Entretanto, Activ Point ® foi significativamente mais efetivo que a irrigação com clorexidina em todas as profundidades de dentina coletadas.

Evans *et al.* (2003) realizaram um estudo para avaliar a eficácia da pasta de hidróxido de cálcio associada a 2% de clorexidina contra *Enterococcus faecalis* em dentina bovina. Os autores utilizaram 24 incisivos bovinos que foram extraídos e cortados de maneira a formar blocos cilíndricos de dentina. Os canais radiculares foram instrumentados, irrigados, e os blocos foram, então, colocados em recipientes contendo caldo de crescimento bacteriano contaminado com *Enterococcus faecalis*. Os espécimes foram incubados por 5 dias para permitir a infecção dos túbulos dentinários e, posteriormente, foram abundantemente irrigados com água estéril. Os blocos foram, então, divididos em dois grupos. O grupo 1 teve o canal radicular preenchido com a pasta de hidróxido de cálcio/água estéril e o grupo 2 recebeu a pasta de hidróxido de cálcio associado a 2% de clorexidina. Após 1 semana, as pastas foram removidas e, com o auxílio de brocas, amostras de dentina foram coletadas. As amostras, após os procedimentos de diluição, foram plaqueadas em BHI ágar para posterior contagem das unidades formadoras de colônia. Os autores verificaram que a pasta hidróxido de cálcio/clorexidina foi mais efetiva contra *E. faecalis* nos túbulos dentinários do que a pasta hidróxido de cálcio/água.

Com o objetivo de avaliar *in vitro* a efetividade da clorexidina gel a 2% e hidróxido de cálcio como medicações intracanaís, separadamente e combinados, Gomes *et al.* (2003a) realizaram um estudo utilizando 180 incisivos maxilares bovinos que foram desgastados na forma de cilindros de 4mm de altura e 6mm de diâmetro. *Enterococcus faecalis* foi a bactéria de escolha para o estudo. Cepas testes foram colocadas em 5 mL de BHI e ajustadas para a turbidez 0.5 da escala de McFarland. Os espécimes, previamente autoclavados, foram então contaminados com 2mL da solução de BHI contendo o inóculo. A cada dois dias, 1mL de BHI contaminado era trocado por 1mL de um novo caldo de BHI estéril. Os espécimes permaneceram em estufa a 37°C por 7 dias. Após esse período, os canais foram irrigados com solução salina e a medicação intracanal foi inserida nos canais. Os espécimes foram divididos em quatro grupos, de acordo com a medicação utilizada, sendo 1

(um) deles somente controle: (1) clorexidina gel a 2%; (2) pasta de hidróxido de cálcio utilizando o polietilenoglicol como veículo; (3) clorexidina a 2% associada à pasta de hidróxido de cálcio e (4) suspensão do meio de cultura BHI. Os espécimes permaneceram incubados a 37°C por períodos variados: 1 (um), dois, sete, quinze e trinta dias. Ao final de cada período, a dentina era removida até uma profundidade de 0,4mm (aproximadamente 4mg) e imediatamente colocada em uma solução contendo 3mL do meio de cultura BHI e sendo colocado posteriormente com neutralizadores para impedir a ação contínua da medicação. O grupo controle apresentou crescimento bacteriano em todos os períodos. Clorexidina gel, sozinha, inibiu o crescimento de *E.faecalis* após 1, 2, 7 e 15 dias. A pasta de hidróxido de cálcio foi inefetiva em todos os grupos experimentais. A combinação da pasta de hidróxido de cálcio e clorexidina foi efetiva após o período de 1 e 2 dias, porém a ação antibacteriana diminuiu entre o período de 7 e 15 dias, evidenciando atividade bacteriana em 66,6% e em 33,3% dos espécimes nos respectivos períodos. Após 30 dias, todos os espécimes mostraram crescimento bacteriano em todos os grupos. Para os períodos de 1 e 2 dias, a clorexidina gel, sozinha ou combinada ao hidróxido de cálcio, demonstrou 100% de ação antibacteriana. A ação da clorexidina gel associada à pasta de hidróxido de cálcio foi significativamente melhor que a ação da pasta de hidróxido de cálcio, porém a ação dessa combinação foi significativamente menor que a ação da clorexidina gel sem a associação do hidróxido de cálcio.

Utilizando dentes humanos uniradiculares extraídos, Schäfer e Bössmann (2005) realizaram um estudo para investigar *in vitro* a efetividade do gluconato de clorexidina a 2% e da pasta de hidróxido de cálcio, separadamente e combinados, contra o microorganismo *Enterococcus faecalis*. Após a instrumentação dos canais, cepas de *E.faecalis* foram inseridas no interior dos canais e permaneceram nos mesmos por um período de 9 dias, e a cada três dias, um novo inóculo era inserido nos canais. Após o período de 9 dias, a suspensão contendo os microorganismos foi removida dos canais com o auxílio de uma seringa, e pontas de papel absorvente foram utilizadas para secar os canais. Os mesmos foram divididos em três grupos, que receberam uma das seguintes medicações: (1) pasta de hidróxido de cálcio, (2) solução de 2% de clorexidina e (3) a associação da pasta de hidróxido de cálcio com a solução de clorexidina em iguais proporções. A medicação permaneceu no interior dos canais por um período de 3 dias. Após a medicação, cada canal foi preparado manualmente com limas Hedström de tamanho 45, 50, 55 e 60. A dentina removida por cada limagem foi coletada para

posterior avaliação microbiológica. Os autores verificaram que o logaritmo da redução foi significativamente maior no grupo que recebeu clorexidina como medicação do que nos grupos que receberam a pasta de hidróxido de cálcio e a associação hidróxido de cálcio/clorexidina. Após a última instrumentação, com a lima 60, os autores observaram que 80% dos dentes do grupo de hidróxido de cálcio, 50% dos dentes do grupo hidróxido de cálcio/clorexidina e 0% dos dentes do grupo da clorexidina permaneceram infectados.

Com o objetivo de investigar a duração da ação antimicrobiana efetiva do hidróxido de cálcio (utilizando a glicerina como veículo) e de 2% de clorexidina gel, Neelakatan *et al.* (2007) realizaram um estudo *in vitro*, utilizando o teste de difusão em ágar. Os medicamentos foram testados contra os seguintes microorganismos: *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Candida albicans*. As zonas de inibição de crescimento foram medidas imediatamente após a colocação do material, 24 horas, 48 horas e 72 horas após a colocação do material. A clorexidina gel a 2% foi melhor que o hidróxido de cálcio contra todos os microorganismos testados, exceto para *Candida albicans* 48 horas e 72 horas após a colocação da medicação e para *Enterococcus faecalis* 72 horas após a colocação da medicação, não sendo observada uma diferença estatisticamente significante entre clorexidina e hidróxido de cálcio.

Em um estudo semelhante, Ballal *et al.* (2007) estudaram, *in vitro*, a eficácia antimicrobiana do hidróxido de cálcio/água destilada, da clorexidina gel a 2% e da combinação destas medicações contra *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, 24 horas e 72 horas após a colocação das substâncias em placas de petri pré-incubadas com os referidos microorganismos. Para *Candida albicans*, após 24 horas, todos os grupos mostraram resultados estatisticamente diferentes. Hidróxido de cálcio (grupo 1) mostrou as maiores zonas de inibição, seguido pelo grupo da clorexidina (grupo 2). O grupo que apresentava a combinação hidróxido de cálcio/clorexidina (grupo 3) mostrou as menores zonas de inibição. Após 72 horas, os grupos 1 e 3 foram similares, mas o grupo 2 foi estatisticamente diferente e mostrou as maiores zonas de inibição. Para *Enterococcus faecalis*, após 24 horas, o grupo 2 obteve as maiores zonas de inibição, seguido do grupo 1. O grupo 3 apresentou as menores zonas de inibição. Após 72 horas, os grupos 1 e 3 mostraram resultados semelhantes, mas o grupo 2 foi o que evidenciou as maiores zonas de inibição. Os autores concluíram que a clorexidina gel a 2% sozinha tem um efeito antimicrobiano efetivo contra *Enterococcus*

faecalis e *Candida albicans* e foi mais efetiva que a pasta de hidróxido de cálcio e que a combinação hidróxido de cálcio/clorexidina gel após 72 horas.

Sassone *et al.* (2008) realizaram um estudo para avaliar, *in vitro*, a atividade antimicrobiana das soluções irrigadores utilizadas na terapia endodôntica. Foram testadas as soluções de hipoclorito de sódio a 1% e 5% e de clorexidina a 0,12%, 0,5% e 1% contra bactérias comumente encontradas nas infecções dos canais radiculares (*E. faecalis*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. gingivalis* e *F. nucleatum*). O teste de difusão em ágar e o teste por contato foram utilizados para determinar a ação antimicrobiana das soluções testadas. No teste por contato, cepas bacterianas foram postas em contato com cada solução por períodos de tempo variáveis: 0 (zero) minutos (apenas o contato imediato), 5 minutos, 15 minutos e 30 minutos. Os resultados do teste por contato mostraram que as soluções de clorexidina a 1% e de hipoclorito de sódio a 1% e 5% eliminaram todos os microorganismos, independente do tempo. Os resultados também evidenciaram que a solução de clorexidina a 0,12% exibiu a menor atividade antimicrobiana contra *E. faecalis*. O teste de difusão em Ágar mostrou que todas as soluções foram capazes de demonstrar atividade antibacteriana contra as cepas testadas. A solução de 5% de hipoclorito de sódio foi a mais efetiva contra *E. faecalis*, *E. coli* e *S. aureus*, enquanto a solução de 1% de clorexidina foi mais efetiva contra *F. nucleatum* e *P. gingivalis*.

Clorexidina, assim como as tetraciclina, possui a característica de permitir que a dentina, após a utilização da mesma, adquira substantividade. Os íons positivamente carregados liberados pela clorexidina podem se fixar no interior da dentina e prevenir a colonização na superfície dentinária por um tempo superior ao período de tempo da aplicação do medicamento (BASRANI *et al.*, 2002). Com o objetivo de analisar a substantividade antimicrobiana da clorexidina em dentina bovina, Komorowski *et al.* (2000) utilizaram 60 discos de dentina radicular que foram imersos em 10 mL de uma das seguintes soluções: (1) solução salina, (2) 5,25% de hipoclorito de sódio e (3) 0,2% de clorexidina. Metade dos espécimes de cada grupo permaneceu imersa nas respectivas soluções por 5 minutos e a outra metade permaneceu imersa por 7 dias. Após o período de imersão (5 minutos ou 7 dias), as soluções foram removidas e os discos secados com papel absorvente. Então, o canal radicular de cada bloco de dentina foi contaminado com uma suspensão de *Enterococcus faecalis*. Uma nova cepa de *E. faecalis* era inoculada a cada 48 horas durante um período total de 21 dias. Após esse período, os espécimes foram vigorosamente irrigados com água destilada e, com a

utilização de brocas, dentina foi removida numa profundidade de 0,1mm a 0,45mm. A dentina coletada foi colocada em tubos contendo BHI e incubada por 24 horas. Os autores observaram que *E. faecalis* foi incapaz de colonizar os túbulos dentinários por 21 dias após a dentina radicular bovina ter sido tratada com 0,2% de clorexidina por 7 dias.

Basrani *et al.* (2002) realizaram um estudo *in vitro* para avaliar a substantividade da ação antimicrobiana da clorexidina sob diferentes formulações em dentina humana radicular. Noventa e oito dentes humanos recém-extraídos tiveram suas coroas e ápices removidos e, com a utilização de pontas e discos diamantados, foram confeccionados “discos” de dentina com 6mm de comprimento e 4mm de diâmetro. Os espécimes foram divididos em 6 grupos experimentais e 2 grupos controle, de acordo com o tipo de medicação intracanal que foi utilizada: (1) clorexidina gel a 2%; (2) clorexidina gel a 0,2%; (3) solução de clorexidina a 2%; (4) hidróxido de cálcio associado a um veículo na forma gel; (5) hidróxido de cálcio associado a clorexidina gel a 0,2%; (6) solução de clorexidina a 2% associada a “cones” pré-fabricados de clorexidina a 25% incorporados a uma matriz polimérica; (7) solução salina e (8) somente o veículo na forma gel. As medicações permaneceram no interior dos canais por um período de sete dias. Após esse período, as substâncias foram removidas, e um inóculo de *Enterococcus faecalis*, previamente ajustado à turbidez 0.5, na escala McFarland, foi injetado em cada canal. Os espécimes inoculados foram incubados por 21 dias a 37°C. Um novo inóculo era adicionado a cada dois dias, e caldo de BHI era adicionado diariamente. Após o fim do período de inoculação, cada canal foi irrigado com 10mL solução salina, e duas amostras de dentina foram coletadas. A primeira amostra, mais interna, foi obtida utilizando a broca Gates-Glidden número 4 em uma profundidade de 0,1mm. A segunda amostra, mais externa, foi obtida utilizando a broca número 5 em uma profundidade de 0,2mm. Cada amostra foi incubada em 3mL de caldo de BHI por 3 dias a 37°C. O crescimento bacteriano foi avaliado a partir da turbidez do meio, utilizando um espectofotômetro para analisar a densidade óptica. Os autores observaram que, no grupo 3 (solução de clorexidina a 2%), as amostras de dentina mais interna tiveram densidade óptica significativamente menor do que as amostras de dentina externa. No grupo 4 (hidróxido de cálcio com veículo gel), as amostras de dentina interna tiveram valores de densidade óptica significativamente maiores do que a dentina externa. Nos outros grupos, os valores de densidade óptica entre as amostras de dentina interna e externa não diferiram significativamente. As amostras dos grupos 1, 3 e 6 (clorexidina gel a 2%, solução a 2% e

“cones” de clorexidina, respectivamente) tiveram valores de densidade óptica significativamente menores que os valores obtidos pelos grupos 7 e 8 (controles), tanto para a dentina interna como para a dentina externa. As amostras dos grupos 4 e 5 (hidróxido de cálcio sem e com clorexidina gel a 0,2%, respectivamente) não obtiveram valores de densidade óptica significativamente diferentes daqueles obtidos pelos grupos 7 e 8.

Com o objetivo de comparar, *in vitro*, a substantividade antimicrobiana da clorexidina, doxiciclina e hipoclorito de sódio, Khademi, Mohammadi e Havaee (2006) utilizaram incisivos bovinos extraídos para a obtenção de 80 discos de dentina com 4mm de altura e 6mm de diâmetro. Os espécimes foram divididos em 5 grupos, de acordo com a medicação que receberam: (1) clorexidina a 2%, (2) 100mg/mL de doxiciclina, (3) 2,6% de hipoclorito de sódio, (4) controle positivo (tubos dentinários infectados), (5) controle negativo (tubos dentinários estéreis). 2mL de uma suspensão de meio de cultura BHI contendo *Enterococcus faecalis* foram injetadas no interior dos canais. Os espécimes permaneceram incubados por um período de 14 dias. Após esse período, os canais foram abundantemente irrigados com solução salina e, com a utilização de brocas ISO numeração 025, 027, 029, 031 e 033, foram removidas amostras de dentina. As amostras de dentina foram obtidas em diferentes períodos experimentais: 0, 7, 14, 21 e 28 dias. A dentina coletada foi transferida para tubos-teste contendo 3mL do meio de cultura BHI, e 100µL de cada tubo foi transferida para placas de ágar sangue, para posterior contagem das espécies. Os autores verificaram que o grupo do hipoclorito de sódio mostrou a maior atividade antibacteriana no dia 0. Porém, no período de 7, 14, 21 e 28 dias, a clorexidina mostrou a ação antibacteriana mais efetiva.

Gomes *et al.* (2003b) realizaram um estudo para determinar *in vitro* o tempo requerido para recontaminação de canais radiculares medicados com hidróxido de cálcio, clorexidina gel e uma combinação de ambos. Os autores utilizaram 80 pré-molares intactos que tiveram seus canais radiculares instrumentados e irrigados com hipoclorito de sódio. Os dentes foram fixados em aparatos que consistiam em um frasco de vidro contendo meio de cultura BHI, de maneira que o ápice radicular ficava em contato com o meio de cultura. À parte superior do aparato foram fixadas seringas plásticas previamente recortadas, que criavam uma câmara ao redor da coroa dentária. Na altura da junção cimento-esmalte, foram colados “stops” de borracha, que fixavam o dente na posição. Os dentes foram randomicamente divididos em grupos, de acordo com a medicação que receberam e a presença ou não de selamento coronário: (1) dentes que receberam clorexidina gel e que não

receberam selamento coronário, (2) dentes que receberam hidróxido de cálcio e que não receberam selamento coronário, (3) dentes que receberam a combinação clorexidina gel/hidróxido de cálcio e que não receberam selamento coronário, (4) dentes que receberam clorexidina gel e selamento coronário, (5) dentes que receberam hidróxido de cálcio e selamento coronário, (6) dentes que receberam a combinação clorexidina gel/hidróxido de cálcio e que receberam selamento coronário, (7) dentes que tiveram selamento coronário, mas não receberam medicação intra-canal, (8) controle positivo (dentes sem medicação e sem selamento coronário) e (9) controle negativo (dentes com coroas intactas). Para o selamento coronário, foi utilizado um restaurador temporário à base de óxido de zinco e eugenol melhorado. Após a correta inserção da medicação e selamento coronário, a parte superior do aparato (a parte em contato com a coroa) foi preenchida com 3mL de saliva humana e 1mL do meio de cultura BHI, que era coletada diariamente de um mesmo indivíduo que não havia realizado os procedimentos e escovação num período mínimo de 12 horas antes da coleta. A saliva presente no aparato era trocada a cada três dias. Os espécimes permaneceram em estufa a 37°C e eram checados diariamente para verificar a turbidez do meio BHI. O controle positivo mostrou turbidez do meio com um (1) dia de incubação. Por outro lado, o controle negativo não mostrou turbidez do meio durante todo o experimento. Os canais sem selamento coronário, mas medicados com clorexidina, mostraram recontaminação após um tempo médio de 3,7 dias; o grupo do hidróxido de cálcio, após 1,8 dias; e o grupo com a combinação clorexidina/ hidróxido de cálcio, após 2,6 dias. Já em relação aos canais que receberam selamento coronário e que foram medicados com clorexidina, verificou-se a recontaminação com 13,5 dias; o grupo do hidróxido de cálcio com 17,2 dias e o grupo com a combinação clorexidina/hidróxido de cálcio após 11,9 dias. O grupo com selamento coronário, mas que não recebeu nenhum tipo de medicação, mostrou recontaminação após 8,7 dias. Os autores concluíram que o selamento coronário, assim como a utilização da medicação intracanal, atrasa uma possível recontaminação dos canais radiculares.

Os atuais medicamentos intracanaís usados em associação com a instrumentação e irrigação não são capazes de eliminar todas as bactérias dos canais radiculares. A clorexidina pode ser uma substância promissora como medicação intracanal em dentes infectados, porém mais pesquisas sobre essa temática são necessárias (ATHANASSIADIS; ABBOTT; WALSH, 2007).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a ação da clorexidina frente ao hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado (Callen PMCC®), como medicação intracanal, na redução dos níveis de bactérias presentes no interior dos canais radiculares de molares decíduos com necrose pulpar.

3.2 Objetivos específicos

- Quantificar a redução dos níveis de Estreptococos do grupo mutans (EGM) e de bactérias anaeróbias nos canais radiculares de molares decíduos com necrose pulpar após o uso do hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado (HC+PMCC) (Callen PMCC®) no interior dos canais por um período de quatorze dias;
- Quantificar a redução dos níveis de EGM e de bactérias anaeróbias nos canais radiculares de molares decíduos com necrose pulpar após o uso da clorexidina gel 1% (CHX) no interior dos canais por um período de quatorze dias;
- Quantificar a redução dos níveis de EGM e de bactérias anaeróbias nos canais radiculares de molares decíduos com necrose pulpar com a utilização apenas do preparo biomecânico dos canais radiculares, sem o uso de medicação intracanal (sessão única).
- Comparar a ação das três modalidades de tratamento (HC+PMCC, CHX e sessão única) na redução dos níveis de EGM e de bactérias anaeróbias nos canais radiculares de molares decíduos com necrose pulpar
- Avaliar os níveis de sucesso clínico obtidos após a aplicação dos referidos tratamentos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Protocolo Clínico

4.1.1 Desenho do estudo

O estudo consistiu em um ensaio clínico, randomizado, cego e boca-cruzada.

4.1.2 Examinadores

A principal investigadora do projeto foi responsável pela seleção e anamnese dos pacientes; pela realização de todas as etapas do tratamento, incluindo radiografias; e por exames de controle com 1 (um) mês, 3 (três) meses, 6 (seis) meses, 12 meses e 18 meses de tratamento.

4.1.3 Amostra

A amostra do presente estudo consistiu de 25 crianças sistemicamente sadias, com idade de 4 a 8 anos, que procuraram a Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará para tratamento odontológico. Desse total, 18 crianças foram selecionadas para os grupos tratamentos. As crianças selecionadas para os grupos tratamentos apresentavam necessidade de tratamento endodôntico radical (pulpectomia) em, no mínimo, dois molares decíduos em hemiarcadas diferentes. Nove pacientes com necessidade de tratamento endodôntico radical (pulpectomia) em, no mínimo, um (1) molar decíduo foram selecionados para o grupo controle. Dos nove pacientes do grupo controle, dois participaram também dos grupos tratamento, pois apresentaram três molares decíduos com necessidade de pulpectomia. Quatro participantes foram retirados do estudo, dois destes devido ao uso de antibióticos sistêmicos durante o período da pesquisa e dois devido ao não comparecimento à clínica no período pré-determinado para a troca da medicação intracanal. Das vinte e uma crianças que permaneceram no estudo, quatorze

crianças fizeram parte dos grupos experimentais HC+PMCC (grupo 1) e CHX (grupo 2) e nove crianças participaram do grupo controle (grupo 3). Desta forma, trinta e sete dentes foram a amostra total do estudo. O grupo 1 teve uma amostra de 14 dentes, assim como o grupo 2. O grupo controle apresentou 9 dentes em sua amostra.

4.1.4 Critérios de Randomização

A randomização dos dentes foi realizada por meio de sorteio. Para os grupos tratamento, cada dente recebia uma numeração (1 ou 2), numeração essa também atribuída a cada modalidade de tratamento (HC+PMCC – 1 e CHX – 2). Inicialmente, foi sorteado qual dente iria ser tratado e, logo em seguida, foi sorteado qual medicação o referido dente iria receber. Por exclusão, o segundo dente seria tratado com a outra medicação. No caso dos dois pacientes que participaram tanto dos grupos tratamento como do grupo controle, os dentes foram aleatorizados entre os grupos também por meio de sorteio, semelhante ao descrito anteriormente.

4.1.5 Seleção dos voluntários

4.1.5.1 Critérios de inclusão de participantes

Foram incluídos, no presente estudo, participantes que preenchessem os seguintes critérios:

- Crianças sadias de ambos os sexos;
- Ausência de história de reações ou doenças alérgicas;
- Idade situada na faixa de 04 a 08 anos;
- Ausência de deficiências de crescimento e desenvolvimento;
- Portadores de, no mínimo, um (1) molar decíduo com necessidade de tratamento endodôntico radical (pulpectomia), no caso das crianças selecionadas para o grupo controle;

- Portadores de, no mínimo, dois molares decíduos, em hemi-arcadas diferentes, com necessidade de tratamento endodôntico radical (pulpectomia), no caso das crianças selecionadas para os grupos tratamentos.

4.1.5.2 Critérios de exclusão de participantes

Foram excluídos do estudo voluntários que se enquadraram nos seguintes critérios:

- Presença de história de doenças alérgicas (asma, rinite, etc.);
- Presença de alergia a qualquer tipo de medicamento e/ou alimentos;
- História de comprometimento do estado geral de saúde;
- Pacientes sadios com risco de desenvolver endocardite bacteriana ou com estado geral de saúde que pudesse ser agravado devido a bacteremias transitórias como, por exemplo, crianças com doenças cardíacas congênitas, imunocomprometidas (transplantados e pacientes oncológicos), portadoras de válvulas cardíacas ou próteses articulares;
- Pacientes que estavam fazendo uso de antibioticoterapia sistêmica ou que tinham feito uso de antibióticos sistêmicos no período de 3 (três) meses antes do início do tratamento endodôntico;
- Pacientes cujos pais ou responsáveis legais recusaram-se a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO A).

4.1.5.3 Critérios de inclusão de dentes no estudo

Molares decíduos foram tratados endodonticamente, por meio de pulpectomia, se preencheram, no mínimo, um dos seguintes requisitos:

- Presença de fístula intra-oral associada;
- Presença de abscesso gengival associado;
- Presença de sintomatologia dolorosa espontânea;
- Sinal radiográfico de lesão periapical ou de furca;

- Mobilidade dentária grau 2 (2mm) associada à presença de fístula, abscesso gengival, a dor ou à sinal radiográfico de patologia pulpar.

4.1.5.4 Critérios de exclusão de dentes no estudo

Foram excluídos do estudo dentes que apresentaram:

- Restaurações;
- Radiografia periapical evidenciando menos de 2/3 de raiz remanescente do dente decíduo a ser tratado;
- Radiografia periapical evidenciando lesão de furca ou periapical envolvendo o dente permanente sucessor;
- Dente com necessidade endodôntica que encontrava-se em estado avançado de reabsorção radicular patológica (reabsorção não-fisiológica envolvendo mais de 1/3 das raízes).

4.1.5.5 Critérios de retirada do estudo

Os participantes foram retirados do estudo dentro das seguintes situações:

- Participantes, pais ou responsáveis legais que desejaram descontinuar a participação no estudo por motivos de razões pessoais, sem prejuízos no acompanhamento clínico das crianças;
- Crianças que não cooperaram com o tratamento;
- Pacientes que fizeram uso de antibióticos sistêmicos durante o tratamento endodôntico (no período entre as sessões do tratamento endodôntico).

4.1.6 Entrada do voluntário no estudo

4.1.6.1 Anamnese

Os pacientes que preencheram os critérios de inclusão apresentados, e que o responsável tenha assinado o termo de consentimento livre e esclarecido, foram convidados a participar do estudo. Estes foram submetidos a uma anamnese, a partir do qual se obtiveram informações sobre o seu estado geral de saúde anterior e presente, além de dados pessoais dos pacientes e de seus pais, tais como endereço e telefone. A ficha de anamnese está presente no ANEXO B.

4.1.6.2 Exame intra-oral

O exame intra-oral foi realizado na cadeira odontológica utilizando sonda exploradora, espelho bucal e seringa tríplice. Durante o procedimento de exame dos dentes, os seguintes parâmetros foram averiguados e anotados na ficha clínica (ANEXO C):

- 1) Situação dos tecidos moles intra-orais: presença ou ausência de patologias e integridade dos tecidos moles;
- 2) Identificação de todos os dentes presentes na cavidade oral: decíduos e permanentes;
- 3) Identificação dos dentes decíduos já com mobilidade fisiológica;
- 4) Número e identificação dos dentes (e superfícies) com lesões de cárie (cavitados e não-cavitados), ausentes (devido à cárie) e restaurados;
- 5) Identificação dos dentes com necessidade de tratamento endodôntico;
- 6) Identificação, se presentes, de abscessos gengivais ou fistulas associadas ao dente com necessidade endodôntica;
- 7) Avaliação do grau de mobilidade dos dentes com necessidade endodôntica;
- 8) Sensibilidade dolorosa (atual ou passada) em alguma unidade dentária.

Não foram executados testes de vitalidade pulpar com o intuito de identificar as unidades dentárias que necessitam de tratamento endodôntico. O real valor dos testes elétricos e térmicos com fins diagnósticos da condição de vitalidade pulpar, na dentição decídua, é controverso, não apresentando confiabilidade (MC DONALD; AVERY, 2001, cap.19).

4.1.6.3 Exame radiográfico

Foi realizado o exame radiográfico periapical dos dentes com necessidade endodôntica. Uma radiografia inicial foi necessária para a observação do processo patológico e determinação do comprimento e topografia dos canais radiculares. Foram verificadas e anotadas, na ficha radiográfica (ANEXO D), as seguintes alterações:

- Espessamento do ligamento periodontal;
- Rarefação do osso de suporte, lesão de furca e o grau dessa lesão;
- Grau de rizogênese do dente;
- Grau de rizólise do dente.

O exame radiográfico periapical foi realizado com o aparelho Spectro (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil), calibrado para operar com 7mA e 70KVp, com tempo de exposição do filme aos raios X de 0,5 segundos. Foram utilizadas películas ultra-speed Kodak (Eastman Kodak Company, Rochester, EUA). Com o intuito de padronização das radiografias, posicionadores infantis foram utilizados (Han-shin, JON, Brasil).

Imediatamente após o término do tratamento endodôntico, foi realizada uma radiografia periapical para verificação da obturação dos canais radiculares. E ao se completarem 30, 90, 120, 270 e 360 dias de pós-operatório, foram realizadas tomadas radiográficas para controle e avaliação. Os critérios radiográficos que foram avaliados para determinar o sucesso radiográfico foram: redução do tamanho da área radiolúcida nos exames de controle, reabsorção normal (fisiológica) das raízes do dente decíduo, ausência de reabsorção interna no dente decíduo e erupção normal do dente permanente sucessor.

4.1.6.4 Aplicação do tratamento (grupos tratamentos)

Foi selecionado um total de 14 crianças (28 dentes) para participarem dos grupos tratamento. Cada paciente recebeu os dois tipos de tratamento, a fim de tentar evitar que fatores individuais pudessem vir a alterar os resultados da pesquisa (estudo boca-cruzada). Dessa forma, em um mesmo indivíduo, em um dente foi executado o tratamento 1 (HC+PMCC) (Callen PMCC®, SSWhite Artigos dentários LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil)

e em um segundo dente foi utilizado o tratamento 2 (CHX), tendo sido utilizado 1mL de clorexidina gel a 1% (Farmafórmula®, Fortaleza, Brasil). A composição dos referidos materiais está escrita na tabela 1. O HC+PMCC foi inserido no interior dos canais com o auxílio de uma seringa própria para a utilização deste material, enquanto a clorexidina foi injetada no interior dos canais com o auxílio de uma seringa hipodérmica descartável estéril, com uma agulha de calibre compatível. Tanto o HC+PMCC como a CHX permaneceram no interior dos canais por um período de 14 dias. A concentração das medicações intracanaís utilizadas nesta pesquisa estava acima da concentração mínima inibitória dos mesmos (AMORIM *et al.*, 2004; PALLOTTA *et al.*, 2007).

Tabela 1. Composição dos materiais utilizados como medicação intracanal

	Composição	Quantidade
Callen PMCC®	hidróxido de cálcio	48,32g%
	paramonoclorofenol	0,72g%
	cânfora	2,16g%
Clorexidina gel 1% (Farmafórmula®)	digluconato de clorexidina 20%	5mL
	metilparabeno	0,135g
	propilparabeno	0,015g
	hidroxietilcelulose	1,15g
	steviosideo	0,24g
	glicerol	5g
	água	100g

Após serem feitas a anamnese, o exame intra-oral e o exame radiográfico inicial, as crianças selecionadas para participar da pesquisa foram submetidas ao tratamento endodôntico. A antiseptia da cavidade oral foi realizada através do bochecho de 5mL de 0,12% de digluconato de clorexidina durante 1 minuto (Periogard, Colgate-Palmolive Ind. Brasileira, Osasco, SP, Brasil). Os dentes selecionados foram anestesiados, isolados com lençol de borracha, e a antiseptia do campo foi realizada com solução de digluconato de clorexidina 0,12%. A remoção de tecido cariado foi feita com brocas de aço esféricas para baixa rotação de tamanhos variados e curetas de dentina número 17, 18, 19 e 20 (SSWhite

Artigos dentários LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Para a abertura coronária, foram utilizadas pontas esféricas diamantadas de haste longa para alta rotação numeração 1012HL, 1014HL (KG Sorensen, São Paulo, Brasil). Em sequência à abertura coronária, realizaram-se a irrigação/aspiração abundante e a introdução de limas. A solução para irrigação escolhida foi a solução de Milton (hipoclorito de sódio a 1%) (Biodinâmica Química e Farmacêutica, Ibiporã, PR, Brasil). As limas utilizadas foram do tipo Kerr 21mm (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) e as mesmas foram demarcadas com topos de borracha no comprimento de trabalho determinado com base na radiografia de diagnóstico (1mm aquém do ápice ou da altura do permanente sucessor). A limagem foi iniciada com limas de menor calibre, sendo estas sucessivamente trocadas por mais calibrosas, imprimindo-lhes movimentos oscilato-rotatórios no sentido horário. A cada troca de instrumento foi realizada a irrigação/aspiração dos canais radiculares com a solução de Milton. Após a limagem, prosseguiram-se a irrigação final (soro fisiológico) e a secagem dos canais com cones de papel absorvente de 1ª série (EndoPoints Industrial da Amazônia LTDA, Manacapuru, Amazonas, Brasil). A medicação intracanal foi, então, colocada no interior dos canais radiculares de acordo com as especificidades de cada material; e a coroa foi restaurada, provisoriamente, com cimento de ionômero de vidro (Vitro Fil, DFL Indústria e Comércio S.A., Rio de Janeiro, Brasil). Após um período de 14 dias, a criança retornou à clínica, onde a restauração provisória foi removida, e o canal foi novamente irrigado, a fim de remover remanescentes da medicação intracanal. A restauração provisória foi novamente realizada e o canal permaneceu “vazio” por um período de dois dias, quando, então, a criança retornou à clínica para a realização da obturação radicular. Para o condicionamento de uma possível “smear layer” existente nos canais radiculares, EDTA trissódico líquido (Biodinâmica Química e Farmacêutica, Ibiporã, PR, Brasil) foi utilizado. O material obturador escolhido foi óxido de zinco (SSWhite Artigos dentários LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e eugenol (SSWhite Artigos dentários LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Concluído o tratamento endodôntico, os dentes receberam coroas de aço (3M, Sumaré, SP, Brasil).

4.1.6.5 Aplicação do tratamento (grupo controle)

Um total de 9 crianças (9 dentes) foi selecionado para participar do grupo controle. O tratamento endodôntico executado, nesse total, foi realizado em sessão única, ou seja, sem a utilização de medicação intracanal. As outras etapas do tratamento endodôntico (antissepsia, isolamento absoluto, abertura coronária, limagem e irrigação/aspiração) foram realizadas de forma igual à executada nos dentes dos grupos tratamento. Após a irrigação/aspiração final com soro, secagem dos canais com cones de papel absorvente e utilização de EDTA (Biodinâmica Química e Farmacêutica, Ibiporã, PR, Brasil), foi realizada a obturação dos canais radiculares com óxido de zinco (SSWhite Artigos dentários LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e eugenol (SSWhite Artigos dentários LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Concluído o tratamento endodôntico, os dentes também receberam coroas de aço (3M, Sumaré, SP, Brasil).

4.1.6.6 Coleta do material intra-radicular

4.1.6.6.1 Grupos tratamentos

A coleta do material foi realizada em dois momentos. A primeira coleta foi realizada imediatamente após a abertura dos canais radiculares. Cones de papel absorvente foram utilizados para coletar o material dos canais radiculares. Os cones de papel foram colocados até 2-3mm antes do ápice radiográfico. Depois de aproximadamente 1 minuto, os cones foram removidos e colocados dentro do tubo tipo eppendorf® estéril contendo 1mL da solução para transporte RTF (reduced transport fluid), o que é recomendado para manutenção da viabilidade de microorganismos anaeróbios (SYED; LOESCHE, 1972). O tubo foi, então, hermeticamente fechado e enviado para processamento microbiológico.

Depois de realizada a coleta do material intra-radicular, foi inserida a medicação intracanal. A medicação permaneceu no interior do canal durante um período de 14 (quatorze) dias. Após esse período, o paciente retornou à clínica, onde foi removida a restauração provisória do dente, e os canais radiculares foram abundantemente irrigados a fim de eliminar qualquer resíduo da medicação intracanal. Bolinhas de algodão estéreis foram colocadas na embocadura dos canais e os mesmos permaneceram vazios em seu interior. Esse procedimento foi realizado a fim de evitar um potencial “falso negativo”, se a coleta fosse

realizada logo após a remoção do material. Os canais permaneceram vazios por um período de 2 (dois) dias e, então, a segunda coleta do material intrarradicular foi realizada, de maneira semelhante à primeira.



Fig.1 cones de papel inseridos nos canais radiculares para coleta.



Fig.2 colocação do cone de papel no tubo-teste contendo o RTF.

4.1.6.6.2 Grupo controle

À semelhança do grupo tratamento, a 1ª coleta do material intra-radicular foi feita imediatamente após a abertura coronária. A 2ª coleta foi realizada após a irrigação/aspiração final com soro fisiológico. Os cones de papel também foram colocados de 2mm a 3mm antes do ápice radiográfico. Depois de aproximadamente 1 minuto, as pontas de papel foram removidas e colocadas dentro do tubo tipo eppendorf® estéril contendo 1mL da solução para transporte RTF, tubo este que foi enviado para processamento microbiológico.

4.1.7 Critérios de avaliação clínicos e radiográficos

Alguns critérios foram analisados a fim de determinar o desfecho clínico (sucesso ou insucesso) do tratamento aplicado. Foram considerados insucesso da terapia endodôntica dentes que apresentaram, durante o período de acompanhamento, as seguintes características:

- Surgimento ou persistência de fístula associada ao dente pulpectomizado;
- Surgimento ou persistência de abscesso gengival associada ao dente pulpectomizado;
- Surgimento ou persistência de mobilidade ou dor (espontânea ou à percussão);
- Surgimento, persistência ou progressão de reabsorção patológica, nas raízes do dente tratado, observada nos exames radiográficos de controle;
- Surgimento, persistência ou progressão de reabsorção patológica nas regiões de furca e/ou periápice.

4.2 Protocolo Analítico

4.2.1 Critérios de armazenagem e transporte dos espécimes

Para análise microbiológica, o material coletado foi transportado para o laboratório em frascos estéreis, contendo 1mL do meio para transporte RTF (Reduced Transport Fluid), recomendado para a manutenção da viabilidade de microorganismos anaeróbios, segundo descrito por Syed e Loesch (1972). O transporte dos tubos até o Laboratório de Microbiologia Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, onde as amostras foram processadas, foi realizado em um período máximo de 30 minutos.

O preparo do meio para transporte foi realizado no referido laboratório. Para o preparo, foram utilizados 1g de cloreto de sódio, 0,2g de fosfato disódico e 0,3g de tioglicolato de sódio. Após a pesagem em balança de precisão semi-analítica (Shimadzu, São Paulo, SP, Brasil), esses materiais foram adicionados a 200mL de água destilada e, então, autoclavados por 15 minutos a 121°C.

4.2.2 Análise de Estreptococos do grupo mutans (EGM)

4.2.2.1 Preparo dos meios de cultura

O meio de cultura utilizado para a contagem de EGM foi o ágar mitis salivarius bacitracina (MSB) (Difco Detroit, Michigan, USA). Esse meio é seletivo para EGM porque a presença de telurito de potássio e de bacitracina em concentrações críticas não é tolerada por outros estreptococos do grupo Viridans (GOLD *et al.*, 1973). Para o preparo do meio, foram necessárias algumas soluções, conforme segue.

4.2.2.1.1 Telurito de potássio

Uma solução de telurito de potássio a 1% foi preparada pela adição de 0,1g de telurito de potássio (VETEC Química Fina LTDA, Rio de Janeiro) em 10mL de água destilada. Os componentes foram misturados; filtrados com uma unidade filtrante estéril descartável Millex, 0,22 μ m, em membrana durapore de 25mm de diâmetro (Millipore Indústria e Comércio, Barueri, SP, Brasil) e armazenados em um frasco escuro no refrigerador a 4°C.

4.2.2.1.2 Bacitracina

Uma solução de bacitracina a 1% foi preparada pela adição de 0,1g de bacitracina (Sigma, St. Louis, Estados Unidos) a 10mL de água destilada. Os componentes foram misturados; filtrados com uma unidade filtrante estéril descartável Millex, 0,22 μ m, em membrana durapore de 25mm de diâmetro (Millipore Indústria e Comércio, Barueri, SP, Brasil) e armazenados em um frasco escuro no refrigerador a 4°C.

4.2.2.1.3 Meio MSB

Para 100mL de meio MSB reconstituído, foram adicionados 15g de sacarose (Difco Detroit, Michigan, USA), 9g de meio base ágar mitis salivarius (MAS) e 100mL de água destilada. Após a sacarose e o MAS serem devidamente misturados com água destilada no tubo de Erlenmeyer, este foi colocado em autoclave a 121°C por 15 minutos. Na sequência, o tubo de Erlenmeyer ser retirado do autoclave, esperou-se a temperatura baixar até aproximadamente 45°C, e acrescentou-se 1mL da solução de telurito de potássio e 1 mL da solução de bacitracina. Com emprego de pipetas estéreis, colocou-se 10mL de meio em cada placa, cuja composição foi conforme segue: 10mL de água destilada; 0,9g de meio base ágar mitis salivarius (MAS); 1,5g de sacarose; 0,1mL de bacitracina e 0,1mL de telurito de potássio.

4.2.2.2 Diluição das amostras

A diluição das amostras, para posterior análise e contagem de EGM, foi realizada utilizando solução salina a 0,9% como meio de diluição. Para o preparo desta diluição, foram necessários 0,9g de cloreto de sódio e 100mL de água destilada. Uma vez homogeneizados os componentes, a solução foi levada à autoclave a 121° C por 15 minutos. Em cada tubo teste, foram colocados 0,9mL de solução salina estéril.

Inicialmente, antes da realização da diluição, o tubo, contendo o material que foi coletado dos canais radiculares, foi agitado mecanicamente através do agitador VORTEX® por um período de 1 minuto. Esse procedimento foi realizado a fim de permitir que as bactérias pudessem se desprender do cone de papel absorvente e tornar a amostra mais uniforme.

Após a agitação do tubo, um volume correspondente a 0,1mL de cada amostra foi assepticamente transferido, com o auxílio de pipeta, para um tubo teste contendo 0,9mL de solução salina estéril. Essa mistura foi homogeneizada. Em sequência, a amostra passou por mais uma diluição, sendo usadas nesse estudo as diluições de 1:10 e 1:100.

4.2.2.3 Semeadura, incubação e contagem das espécies

Um volume de 0,1mL (100µL) de cada diluição utilizada foi cultivado em duplicatas de placas do meio MSB. Para permitir a homogeneização desse volume nas placas, uma alça drigalski previamente flambada foi utilizada. As placas de Petri semeadas foram incubadas em estufa para cultura bacteriológica (alidef cf) a 37°C em ambiente de microaerofilia (jarra com vela) por 48 horas.

A contagem das colônias foi feita por observação visual direta das placas de Petri. Os dados foram convertidos em unidades formadoras de colônia por mL (ufc/mL), multiplicando o número de colônias encontradas pela respectiva diluição.



Fig. 3 placas em ambiente de microanaerofilia (jarra com vela)

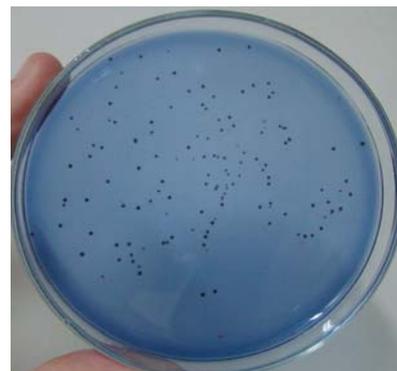


Fig. 4 visualização das colônias após a retirada da placa do interior da jarra

4.2.3 Análise de microorganismos anaeróbios

4.2.3.1 Preparo dos meios de cultura

O meio de cultura Brucella-ágar (Difco Detroit, Michigan, USA) suplementado com sangue lisado de carneiro, cloridrato de L-cisteína e hemina/menadione foi utilizado para a cultura de microorganismos anaeróbios. Para 150 mL de água destilada, foram adicionados 6,5g do meio Brucella-ágar e 0,15g de cloridrato de L-cisteína anidra (Labsynth produtos Bacteriológicos, Diadema, São Paulo). O frasco contendo a mistura foi levado à autoclave na temperatura 121°C por 15 minutos. Após o resfriamento até a temperatura de 45°C, foram adicionados 1,5mL de hemina/menadione e 5% de sangue lisado de carneiro. Após o preparo, foram distribuídos 15mL do meio por placa.

4.2.3.2 Diluição das amostras

Para a diluição das amostras e posterior análise de microorganismos anaeróbios, foi utilizado o tampão fosfato PBS. Para seu preparo, dissolvem-se, em 800mL de água destilada, 8g de NaCl, 0,2g de KCl, 1,44g de N_2HPO_4 e 0,24g de KH_2PO_4 . Realizada a mistura, ajusta-se o pH para 7,4, e adiciona-se 200mL de água para completar 1L de água na solução final. O meio é, então, autoclavado a 121°C por 15 minutos. Um volume de 0,9mL foi colocado em tubos-teste com o auxílio de pipetas estéreis.

Após a agitação no VORTEX® do tubo contendo o material coletado, um volume correspondente a 0,1mL de cada amostra foi assepticamente transferido com o auxílio de pipeta para um tubo teste contendo 0,9mL de solução PBS. Essa mistura foi então homogeneizada. Com essa diluição, foi realizada uma série de diluições seriadas, até a diluição 1:10⁵.

4.2.3.3 Semeadura, incubação e contagem das espécies

Um volume de 0,01mL (10 μ L) de cada diluição utilizada foi cultivado em triplicatas no meio Brucella-ágar.

As placas de Petri semeadas foram incubadas em estufa para cultura bacteriológica (alidef cf) a 37°C em ambiente de anaerobiose por 7 dias. Para propiciar o ambiente de anaerobiose, foram utilizadas jarras para anaerofilia GasPak®, contendo geradores de atmosfera de anaerobiose (Anaerobac, Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda., São Paulo-SP). As placas foram colocadas no interior das jarras deixando um espaço de pelo menos 1cm entre a última placa e a tampa da jarra.

Para a ativação do gerador Anaerobac, destaca-se o papel alumínio que cobre a fita indicadora colocada na lateral do gerador. Neste momento, a fita encontra-se na cor azul. Distribuem-se, lentamente, 20mL de água sobre toda a superfície absorvente do Anaerobac. Somente, então, colocou-se o Anaerobac sobre a última placa com a superfície úmida voltada para cima. Após um período de 4 a 6 horas e até o final do período de incubação (7 dias), a fita indicadora mudava de cor, ficando branca, o que indicava que o ambiente já se encontrava em anaerobiose.

A contagem das colônias foi feita por observação visual direta das placas de Petri. Os dados foram convertidos em ufc/mL, multiplicando-se o número de colônias encontradas pela respectiva diluição.



Fig. 5 Semeadura nas placas de Brucella ágar



Fig. 6 Placas no interior da jarra de anaerobiose, juntamente com o anaerobac



Fig. 7 Visualização das colônias nas placas de Brucella

4.2.3.4 Teste de coloração de gram

Após a contagem dos microorganismos, foi realizado o teste de coloração de Gram nas unidades formadoras de colônia. A coloração foi realizada a fim de obter a caracterização das bactérias, pois o teste permite observar a forma e o tipo de agrupamento bacteriano, além de diferenciar as células em dois grupos frente aos corantes básicos. O teste foi realizado da seguinte forma:

1. Esfregaços finos foram fixados pelo calor em lâminas limpas, desengorduradas e secas;
2. Os esfregaços foram cobertos com solução aquosa de cristal violeta por 1 minuto;
3. Retirou-se o excesso;
4. Os esfregaços foram cobertos com lugol, e esperou-se 1 minuto;
5. A lâmina foi descorada usando álcool-acetona e, então, lavada com água em abundância;
6. Cobriram-se os esfregaços com solução aquosa de fucsina por 1 minuto;
7. A lâmina foi lavada abundantemente e secada ao ar.

Após a realização desses procedimentos, as lâminas foram analisadas em microscópio óptico com lente de imersão.

4.3 Aspectos Éticos

4.3.1 Comitê de ética em pesquisa

Esta pesquisa, assim como seu protocolo e termo de consentimento foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COMPEPE) da Faculdade de Medicina da UFC, ofício número 465/07, número de protocolo 143/07.

4.3.2 Termo de Consentimento

Era imprescindível a presença de um dos pais ou responsável legal pela criança na consulta inicial para que fosse esclarecida em detalhes a natureza e os objetivos do estudo e para que fosse obtido o consentimento informado por escrito (ANEXO A). Caso o responsável pela criança soubesse ler e escrever, foi solicitado do mesmo que assinasse o termo de consentimento livre e esclarecido. Todavia, em situação contrária, após leitura verbal do termo de consentimento, a confirmação de sua obtenção foi feita por meio de impressão digital de um dos pais ou responsável legal, qualificação do responsável autorizador(a) ao lado da digital, com subsequente assinatura de duas testemunhas. O responsável pela criança também foi informado de que havia liberdade para a retirada da criança do estudo a qualquer momento.

4.4 Análise Estatística

Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa SigmaPlot 11.0®. O teste de Kruskal-Wallis foi aplicado para verificar se havia diferença na idade (em meses) entre os grupos e para comparação dos dados das coletas iniciais e finais (níveis de EGM e de bactérias anaeróbias) entre os grupos. Para a comparação entre os dados das coletas iniciais e finais de cada grupo foi utilizado o teste de Wilcoxon. As reduções dos níveis de EGM foram comparadas utilizando o teste de Mann Whitney, e o teste de Kruskal-Wallis foi escolhido para a comparação entre os grupos da redução dos níveis de bactérias anaeróbias. As diferenças só foram consideradas como estatisticamente significantes quando o nível de significância “p”<0.05.

5 RESULTADOS

5.1 Distribuição de idade entre os grupos

A média de idade dos pacientes que participaram dos grupos experimentais foi de 67,71 meses ($\pm 2,97$). O paciente mais jovem apresentava 48 meses (4 anos) de idade e o paciente mais velho 84 meses (7 anos) de idade. Para o grupo controle, a média de idade foi de 69,3 meses, no qual o paciente mais jovem tinha 48 meses (4 anos) de idade e o paciente mais velho 96 meses (8 anos) de idade. A comparação da idade entre os grupos não mostrou diferença estatisticamente significativa ($p=0,993$, teste de Kruskal-Wallis). A tabela 2 descreve a distribuição da idade dos participantes da pesquisa, o sexo dos participantes, os dentes com necessidade de tratamento endodôntico e o tipo de tratamento recebido por cada dente. O gráfico 1 evidencia a distribuição das idades e as respectivas médias dos grupos 1 (HC+PMCC), 2 (CHX) e 3 (Controle).

Tabela 2. Descrição da amostra do estudo segundo idade, sexo, dente com necessidade de tratamento endodôntico e medicação utilizada.

Paciente	Idade (meses)	Sexo	Dente	Tratamento
1	60,0	M	75	2
			55	1
2	72,0	M	85	2
			65	1
3	72,0	F	65	2
			54	1
4	84,0	M	55	1
			85	2
5	84,0	F	55	2
			64	1
6	72,0	M	54	1
			65	2
			74	3
7	48,0	M	74	2
			85	1
8	72,0	M	74	1
			64	2
9	60,0	M	85	2
			75	1
			65	3
10	72,0	M	85	3
11	72,0	F	85	1
			75	2
12	72,0	M	84	1
			74	2
13	48,0	F	85	2
			74	1
14	48,0	F	85	3
15	72,0	F	85	1
			55	2
16	60,0	M	85	2
			65	1
17	60,0	F	54	3
18	72,0	F	64	3
19	72,0	F	75	3
20	96,0	M	75	3
21	72,0	F	85	3

F – feminino; M- masculino

1 – HC+PMCC; 2 – CHX; 3 – controle (sessão única)

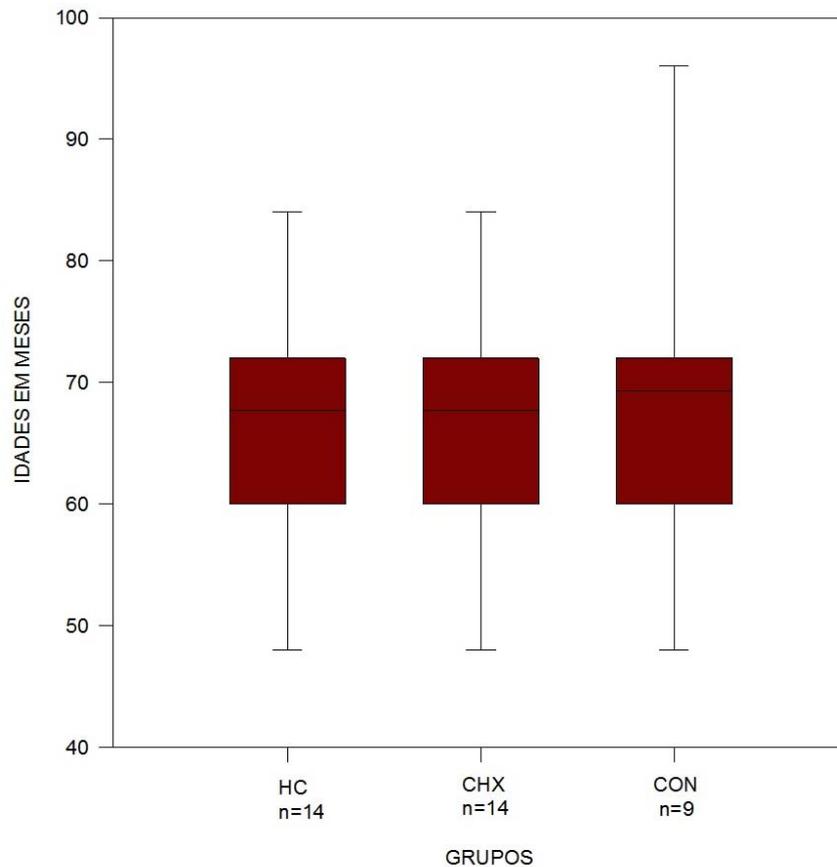


Gráfico 1 - Distribuição das idades e respectivas médias do grupo 1 (HC+PMCC), grupo 2 (CHX) e grupo 3 (Controle).

5.2 Níveis de contaminação inicial por *Streptococos* do grupo mutans (EGM)

Dos 37 dentes pesquisados, 64,86% (24 dentes) apresentaram algum nível de contaminação por EGM. As amostras iniciais coletadas dos dentes do grupo 1 mostraram presença de EGM em 64,28% dos casos (9 dentes). Para as amostras do grupo 2, os níveis de contaminação foram de 71,42% (10 dentes) e, para o grupo 3 (controle), esses níveis foram de 55,55% (5 dentes). A média encontrada na análise dos referidos dados; o erro padrão, mediana, mínimo, máximo e os quartis de 25% e 75% da análise dos níveis de contaminação iniciais por EGM dos três grupos estão expostos na tabela 3. A comparação dos níveis de contaminação iniciais mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,526$, teste Kruskal-Wallis).

Tabela 3. Dados da estatística básica aplicada aos níveis de contaminação iniciais e finais por EGM encontrados nas amostras dos grupos 1 (HC+PMCC), 2 (CHX) e 3 (Controle).

	Coleta Inicial			Coleta Final		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Média	4446,42	334760,00	1405,55	58460,71	53189,50	1338,88
Erro padrão	2594,78	226329,99	1095,96	56304,83	52831,81	1104,71
Mediana	375,00	200,00	50,00	0,00	0,00	0,00
Mínimo	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Percentil 25%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Percentil 75%	1200,00	10000,00	875,00	500,00	800,00	537,50
Máximo	34800,00	2460000,00	10000,00	790000,00	740000,00	10000,00

5.3 Níveis de contaminação finais por EGM

As amostras coletadas após a aplicação do tratamento mostraram níveis de contaminação por EGM em 40,54% das unidades amostrais (15 dentes). Dos 22 dentes que apresentaram níveis indetectáveis de EGM, 15 dentes apresentavam algum nível de contaminação nas amostras da coleta inicial.

EGM estavam presentes em 42,85% das amostras (6 dentes) do grupo 1; mesmo nível de contaminação foi encontrado para o grupo 2, e a análise das amostras do grupo controle mostrou a presença de EGM em 33,33% dos casos (3 dentes). A comparação dos níveis de contaminação finais entre os grupos não mostrou diferença estatisticamente significativa ($p= 0,887$, teste Kruskal-Wallis). Os dados da estatística básica para os níveis de contaminação finais dos três grupos estão descritos na tabela 3.

5.4 Níveis de redução de EGM

5.4.1 Grupo 1 (hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado)

Quando comparados os níveis de contaminação iniciais e finais, verificou-se que HC+PMCC não reduziu os níveis de EGM, não havendo diferença estatisticamente significativa entre a contagem inicial e final ($p=0,625$, teste Wilcoxon). A análise dos dados mostrou que ocorreu um aumento dos níveis de EGM, evidenciado por uma média de redução negativa de $-54.014,28$ ufc/mL ($\pm 53.989,22$) no grupo tratado com HC+PMCC. O nível de redução obtido pelo grupo 1, assim como o número de ufc/mL das amostras iniciais e finais de cada dente, estão apresentadas na tabela 4.

Tabela 4. Contagem inicial, final e os níveis de redução de EGM das amostras do grupo 1 (HC+PMCC).

Amostra	Contagem inicial (ufc/mL)	Contagem final (ufc/mL)	Redução (ufc/mL)
1	$3,48 \times 10^4$	$7,90 \times 10^5$	$-7,55 \times 10^5$
2	$1,00 \times 10^2$	$1,00 \times 10^2$	0
3	$1,20 \times 10^3$	$8,00 \times 10^2$	$4,00 \times 10^2$
4	$1,20 \times 10^3$	0	$1,20 \times 10^3$
5	0*	$2,70 \times 10^4$	$-2,70 \times 10^4$
6	$1,00 \times 10^4$	0	$1,00 \times 10^4$
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	$5,00 \times 10^1$	$-5,00 \times 10^1$
10	$2,50 \times 10^2$	$5,00 \times 10^2$	$-2,50 \times 10^2$
11	$1,37 \times 10^4$	0	$1,37 \times 10^4$
12	$5,00 \times 10^2$	0	$5,00 \times 10^2$
13	$5,00 \times 10^2$	0	$5,00 \times 10^2$
14	0	0	0
Média	4.446,429	58.460,714	- 54.014,286

* Contagem igual à 0 equivale a níveis indetectáveis de ufc

5.4.2 Grupo 2 (clorexidina)

A média da redução dos níveis de EGM deste grupo foi de 281.570,50 ufc/mL ($\pm 197.063,97$). Uma diferença estatisticamente significativa foi encontrada quando comparadas as contagens iniciais e finais de EGM ($p= 0,010$, teste Wilcoxon). A tabela 5 apresenta o número de ufc/mL das amostras iniciais, finais de cada dente e o nível de redução obtido após o tratamento.

Tabela 5. Contagem inicial, final e os níveis de redução de EGM das amostras tratadas com clorexidina gel a 1%.

Amostra	Contagem inicial (ufc/mL)	Contagem final (ufc/mL)	Redução (ufc/mL)
1	$1,40 \times 10^4$	$2,00 \times 10^3$	$1,20 \times 10^4$
2	$2,46 \times 10^6$	$1,15 \times 10^3$	$2,46 \times 10^6$
3	$2,20 \times 10^6$	$7,40 \times 10^5$	$1,46 \times 10^6$
4	$2,00 \times 10^2$	0	$2,00 \times 10^2$
5	$1,00 \times 10^4$	$8,00 \times 10^2$	$9,20 \times 10^3$
6	$2,00 \times 10^2$	0	$2,00 \times 10^2$
7	$1,00 \times 10^3$	0	$1,00 \times 10^3$
8	$2,00 \times 10^2$	0	$2,00 \times 10^2$
9	0	0	0
10	$9,40 \times 10^2$	$3,70 \times 10^2$	$5,70 \times 10^2$
11	0	0	0
12	0	$3,33 \times 10^2$	$-3,33 \times 10^2$
13	0	0	0
14	$1,00 \times 10^2$	0	1×10^2
Média	334.760,00	53.189,50	281.570,50

* Contagem igual à 0 equivale a níveis indetectáveis de ufc

5.4.3 Grupo Controle

Os dados do grupo controle mostraram que, apesar de uma redução positiva dos níveis de EGM, com uma média de redução de 66,66 ufc/mL ($\pm 55,27$), não houve diferença estatisticamente significativa entre as contagens iniciais e finais de EGM ($p=0,500$, teste Wilcoxon). Os dados coletados das amostras do grupo controle (redução de EGM alcançada, ufc/mL das amostras iniciais e finais) estão presentes na tabela 6.

Tabela 6. Contagem inicial, final e os níveis de redução de EGM das amostras do grupo Controle.

Amostra	Contagem inicial (ufc/mL)	Contagem final (ufc/mL)	Redução (ufc/mL)
1	0	0	0
2	$5,00 \times 10^1$	$5,00 \times 10^1$	0
3	$1,00 \times 10^4$	$1,00 \times 10^4$	0
4	$2,00 \times 10^3$	$2,00 \times 10^3$	0
5	0	0	0
6	$5,00 \times 10^2$	0	$5,00 \times 10^2$
7	$1,00 \times 10^2$	0	$1,00 \times 10^2$
8	0	0	0
9	0	0	0
Média	1.405,55	1.338,88	66,66

* Contagem igual à 0 equivale a níveis indetectáveis de ufc

5.4.4 Comparação da redução entre os grupos

Quando os níveis de redução de EGM dos grupos 1 (HC+PMCC) e 2 (CHX) foram comparados, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,187$, teste de Mann Whitney). Também não foi observada diferença quando os grupos 1 (HC+PMCC) e 3 (Controle) foram comparados ($p=0,867$, teste de Mann Whitney). Quando

os grupos 2 (CHX) e 3 (Controle) foram comparados, verificou-se uma diferença significativa entre os grupos ($p=0,032$, teste de Mann Whitney). O gráfico 2 mostra a redução no número de ufc/mL de EGM obtida nos três grupos.

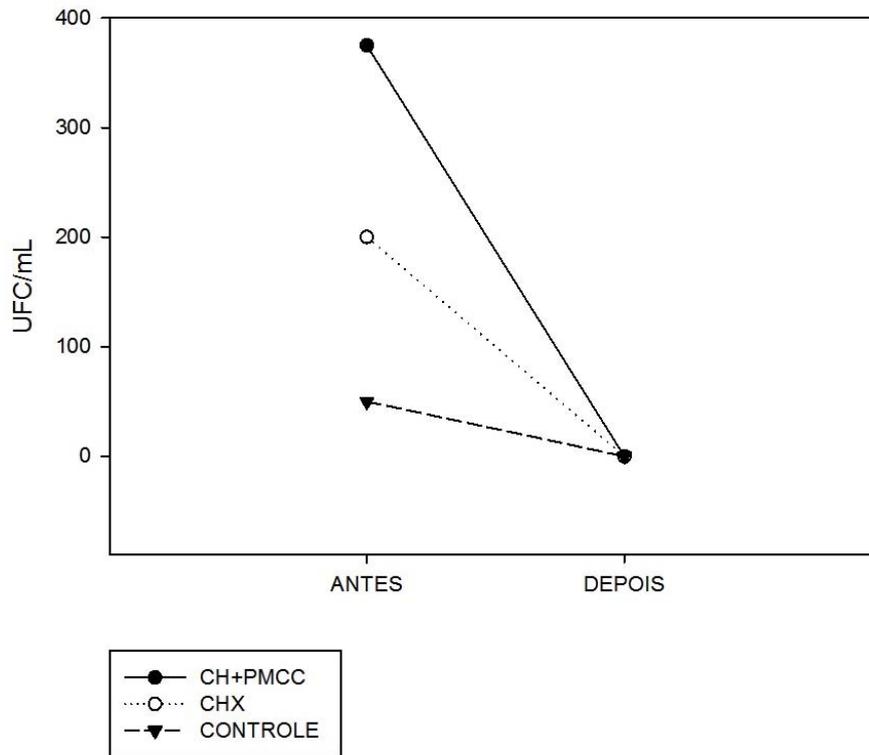


Gráfico 2. Número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de EGM antes e após os diversos tratamentos. Valores expressos em medianas.

5.5 Níveis de contaminação inicial por bactéria anaeróbias

Não houve diferença estatisticamente significativa quando os níveis de contaminação iniciais dos grupos foram comparados ($p=0,772$, Kruskal-Wallis). Os dados da estatística básica para os níveis de contaminação iniciais dos três grupos estão descritos na tabela 7.

Tabela 7. Dados da estatística básica aplicada aos níveis de contaminação iniciais e finais por bactérias anaeróbias encontrados nas amostras do grupo 1 (HC+PMCC), grupo 2 (CHX) e grupo 3 (Controle).

	Coleta Inicial			Coleta Final		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Média	271682,857	4987111,14	461468,88	13329,929	96758,28	18585,11
Erro padrão	112196,433	4741599,916	442437,19	9377,77	55875,22	10453,16
Mediana	10000,00	33300,00	10000,00	1000,00	366500	10000,00
Mínimo	0,00	333,00	330,00	0,00	0,00	0,00
Percentil 25%	1000,00	1660,00	2912,500	0,00	0,00	499,50
Percentil 75%	600000,00	333000,00	37450,00	6660,00	33300,00	17450,00
Máximo	1230000,00	66600000,00	4000000,00	133000,00	600000,00	100000,00

5.6 Níveis de contaminação final por bactérias anaeróbias

Foi verificado que, após a aplicação do tratamento, 27,02% de todas as amostras (10 dentes) tiveram níveis indetectáveis de unidades formadoras de colônias. O restante das amostras (72,97%; 27 dentes) ainda apresentaram níveis detectáveis de contaminação bacteriana. No grupo 1, 28,57% (4 dentes) das amostras finais apresentaram níveis indetectáveis de ufc. O grupo 2 apresentou o mesmo número de dentes (4 dentes; 28,57%) com níveis indetectáveis de ufc nas amostras finais. Já no grupo controle, apenas 22,22% (2 dentes) das amostras finais tiveram níveis indetectáveis de ufc.

Os dados da estatística básica para os níveis de contaminação finais dos três grupos estão descritos na tabela 7. A comparação entre os grupos do número de ufc/mL das amostras finais não mostrou diferença estatisticamente significativa ($p=0,541$, teste de Kruskal-Wallis).

5.7 Níveis de redução de bactérias anaeróbias

5.7.1 Grupo 1 (hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado)

Quando os níveis de contaminação iniciais e finais por anaeróbios foram comparados, observou-se que o hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado reduziu significativamente o número de ufc/mL ($p=0,002$, teste de Wilcoxon). O grupo 1 obteve uma redução média de 258.352,92 ufc/mL ($\pm 109.789,89$). A tabela 8 contém o número de ufc/mL das amostras iniciais e finais de cada dente, assim como a redução obtida.

Tabela 8. Contagem inicial, final e os níveis de redução de bactérias anaeróbias das amostras do grupo 1 (HC+PMCC).

Amostra	Contagem inicial (ufc/mL)	Contagem final (ufc/mL)	Redução (ufc/mL)
1	$6,00 \times 10^5$	$1,33 \times 10^5$	$4,67 \times 10^5$
2	$8,66 \times 10^3$	$1,00 \times 10^3$	$7,66 \times 10^3$
3	$1,00 \times 10^4$	$4,33 \times 10^3$	$5,67 \times 10^3$
4	$6,00 \times 10^2$	0	$6,00 \times 10^2$
5	$6,00 \times 10^5$	0	$6,00 \times 10^5$
6	$3,33 \times 10^4$	$3,33 \times 10^3$	$3,00 \times 10^4$
7	$3,00 \times 10^5$	$6,66 \times 10^3$	$2,93 \times 10^5$
8	$1,00 \times 10^4$	$3,33 \times 10^2$	$9,67 \times 10^3$
9	$1,00 \times 10^4$	$1,23 \times 10^4$	$-2,30 \times 10^3$
10	$1,00 \times 10^3$	$6,66 \times 10^2$	$3,34 \times 10^2$
11	$1,23 \times 10^6$	$1,00 \times 10^3$	$1,23 \times 10^6$
12	0	0	0
13	$1,00 \times 10^6$	$2,40 \times 10^4$	$9,76 \times 10^5$
14	0	0	0
Média	271.682,85	13.329,92	258.352,92

* Contagem igual à 0 equivale a níveis indetectáveis de ufc

5.7.2 Grupo 2 (clorexidina)

Foi observada uma tendência de redução estatisticamente significativa quando os dados coletados das amostras iniciais e finais foram comparados ($p=0,080$, teste de Wilcoxon). A média desta redução foi de 4.890.352,85 ufc/mL ($\pm 4.749.451,00$). As reduções alcançadas por este grupo e os dados coletados das amostras iniciais e finais estão presentes na tabela 9.

Tabela 9. Contagem inicial, final e os níveis de redução de bactérias anaeróbias das amostras do grupo 2 (CHX).

Amostra	Contagem inicial (ufc/mL)	Contagem final (ufc/mL)	Redução (ufc/mL)
1	$3,33 \times 10^4$	$3,33 \times 10^4$	0
2	$3,33 \times 10^5$	$6,00 \times 10^5$	$-2,67 \times 10^5$
3	$6,66 \times 10^7$	0	$6,66 \times 10^7$
4	$6,00 \times 10^5$	$6,00 \times 10^3$	$5,94 \times 10^5$
5	$1,66 \times 10^5$	$1,33 \times 10^5$	$3,30 \times 10^4$
6	$1,66 \times 10^3$	$1,00 \times 10^3$	$6,60 \times 10^2$
7	$2,00 \times 10^6$	$6,66 \times 10^3$	$1,99 \times 10^6$
8	$3,33 \times 10^2$	0	$3,33 \times 10^2$
9	$1,40 \times 10^4$	$6,66 \times 10^3$	$7,34 \times 10^3$
10	$3,33 \times 10^3$	$1,33 \times 10^3$	$2,00 \times 10^3$
11	$3,33 \times 10^4$	$5,66 \times 10^5$	$-5,33 \times 10^5$
12	$3,33 \times 10^2$	$6,66 \times 10^2$	$-3,33 \times 10^2$
13	$3,33 \times 10^4$	0	$3,33 \times 10^4$
14	$1,00 \times 10^3$	0	$1,00 \times 10^3$
Média	4.987.111,14	96.758,28	4.890.352,85

* Contagem igual à 0 equivale a níveis indetectáveis de ufc

5.7.3 Grupo 3 (Controle)

O grupo 3 apresentou uma redução média das ufc/mL de 442.883,77 (\pm 432.257,52). Embora tenha-se observado uma tendência a redução na contagem bacteriana, a mesma não foi estatisticamente significativa ($p=0,156$, teste Wilcoxon). O número de ufc das amostras iniciais, finais, e o número de ufc reduzido com o tratamento estão detalhados na tabela 10.

Tabela 10. Contagem inicial, final e os níveis de redução de bactérias anaeróbias das amostras do grupo controle.

Amostra	Contagem inicial (ufc/mL)	Contagem final (ufc/mL)	Redução (ufc/mL)
1	$8,00 \times 10^3$	$2,00 \times 10^4$	$-1,20 \times 10^4$
2	$1,00 \times 10^5$	$1,00 \times 10^4$	$9,00 \times 10^4$
3	$1,66 \times 10^4$	$1,66 \times 10^4$	0
4	$1,33 \times 10^4$	$1,00 \times 10^4$	$3,30 \times 10^2$
5	$1,00 \times 10^4$	$1,00 \times 10^4$	0
6	$4,00 \times 10^6$	$1,00 \times 10^5$	$3,90 \times 10^6$
7	$3,30 \times 10^2$	0	$3,30 \times 10^2$
8	$3,33 \times 10^3$	0	$3,33 \times 10^3$
9	$1,66 \times 10^3$	$6,66 \times 10^2$	$9,94 \times 10^2$
Média	461.468,88	18.585,11	442.883,77

* Contagem igual à 0 equivale a níveis indetectáveis de ufc

5.7.4 Comparação da Redução entre os grupos

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa quando as reduções alcançadas nos grupos 1 (HC+PMCC), 2 (CHX) e 3 (Controle) foram comparadas ($p=0.564$, teste Kruskal-Wallis). O gráfico 3 apresenta a redução de bactérias anaeróbias observada nos três grupos.

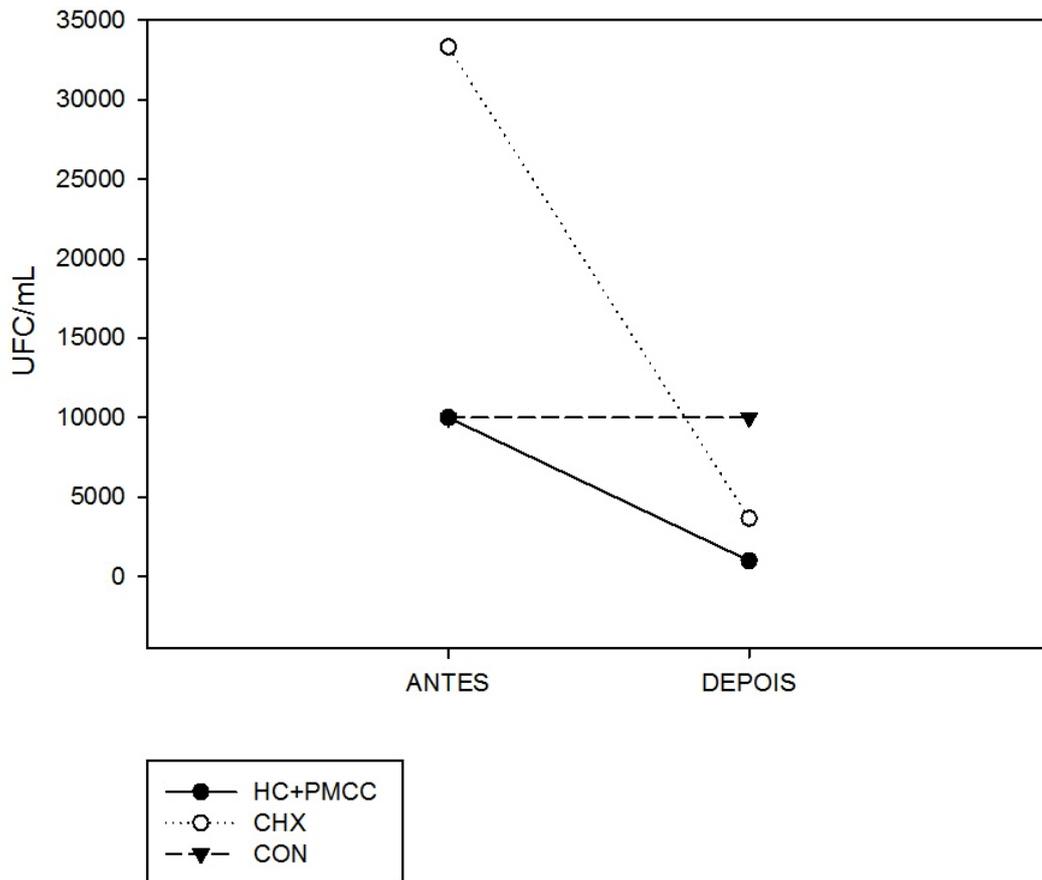


Gráfico 3. Número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) anaeróbias antes e após os diversos tratamentos. Valores expressos em medianas.

5.8 Resultados do teste de coloração de gram

Foi verificado que o morfotipo bacteriano mais predominante nas amostras obtidas na coleta inicial foram os cocos gram-positivos, encontrado em 23 de um total de 37 amostras (62,16%), seguido dos bacilos gram-negativos (13 amostras, 35,13%), bacilos gram-positivos (5 amostras, 13,51%) e cocos gram-negativos (3 amostras, 8,10%). Resultado semelhante foi observado nas amostras obtidas na coleta final, aonde os cocos gram-positivos também foram o morfotipo mais encontrado (16 amostras, 43,24%), seguido dos bacilos gram-negativos (11 amostras, 29,72%), cocos gram-negativos (6 amostras, 16,21%) e bacilos gram-positivos (5 amostras, 13,51%).

Dentre as amostras obtidas da coleta final após o tratamento com HC+PMCC, verificamos a presença de cocos gram-positivos em 6 amostras (42,85%), seguido por bacilos gram-negativos (5 amostras, 35,71%) e cocos gram-negativos e bacilos gram-positivos, estes últimos encontrados em 2 amostras cada (14,28%). Já para o grupo tratado com CHX, observou-se a predominância de bacilos gram-negativos nas amostras obtidas da coleta final (6 amostras, 42,85%), seguido por cocos gram-positivos (4 amostras, 28,57%), cocos gram-negativos (3 amostras, 21,42%) e bacilos gram-positivos (2 amostras, 14,28%). Cocos gram-positivos foram os morfotipos mais encontrados (6 amostras, 66,66%) nas amostras obtidas após o tratamento em sessão única (grupo controle), seguido por cocos gram-negativos e bacilos gram-positivos, encontrados em apenas 1 amostra cada (11,11%). Não foi observada a presença de bacilos gram-negativos nas amostras finais deste grupo.

O microorganismo *Fusobacterium nucleatum* estava presente em apenas 1 (uma) amostra obtida da coleta inicial (2,70%), sendo esta amostra do grupo 1 e em 2 amostras obtidas da coleta final (5,40%), sendo uma (1) amostra do grupo 1 e 1 (uma) amostra do grupo 2. Bacilos pretos pigmentados foram observados em 4 amostras, 2 destas obtidas da coleta inicial do grupo 1 (5,40%) e 2 obtidas da coleta final, sendo 1 (uma) amostra pertencente ao grupo 1 e 1 (uma) amostra do grupo 2 (5,40%).

A distribuição do número de UFC de acordo com os morfotipos bacterianos observados nas coletas inicial e final para os três grupos (HC+PMCC, CHX, CONTROLE) está apresentada nas tabelas 11, 12 e 13.

Tabela 11. Número de ufc/ml das coletas iniciais do grupo 1(HC+PMCC) e do grupo 2 (CHX), distribuídas de acordo com o morfotipo bacteriano. As unidades formadoras de colônia passíveis de identificação também estão apresentadas na tabela.

Paciente	Dente	Grupo	Morfotipos (ufc/mL)				Identificação
			Coco +	Coco -	Bacilo +	Bacilo -	
1	75	2	3,33x10 ⁴	0	0	0	
	55	1	0	0	0	6,33x10 ⁵ 6,33x10 ⁵	
2	85	2	6,66x10 ⁴	6,66x10 ⁴ 2,00x10 ⁵	0	0	
	65	1	1,66x10 ³	0	0	3,33x10 ² * 3,00x10 ³ ** 3,66x10 ³	*BPP ** <i>F.nucleatum</i>
3	65	2	0	0	0	6,66x10 ⁷	
	54	1	1,00x10 ⁴	0	0	0	
4	55	1	3,33x10 ² 3,33x10 ²	0	0	0	
	85	2		0	0	6,66x10 ⁵	
5	55	2		0	0	1,66x10 ⁵	
	64	1	3,33x10 ⁶	0	0	3,33x10 ⁶	
6	54	1		0	3,33x10 ⁴		
	65	2		3,33x10 ²		1,00x10 ³ 3,33x10 ²	
7	74	2	3,00x10 ⁵	0	0	0	
	85	1	3,33x10 ⁵ 3,33x10 ⁵	0	1,33x10 ⁶	0	
8	74	1	0	0	0	6,66x10 ⁴ 3,33x10 ⁴ *	*BPP
	64	2	3,33x10 ²	0	0	0	
9	85	2	1,00x10 ⁴	0	0	0	
	75	1	6,66x10 ⁴ 3,33x10 ⁴	0	0	0	
10	85	1	1,00x10 ³	0	0	0	
	75	2	3,33x10 ³	0	0	0	
11	84	1	1,00x10 ⁶ 1,33x10 ⁵	0	1,00x10 ⁵	0	
	74	2	0	0	0	3,33x10 ⁴	
12	85	2	0	0	0	3,33x10 ²	
	74	1	0	0	0	0	
13	85	1	0	0	0	1,00x10 ⁶	
	55	2	3,33x10 ⁴	0	0	0	
14	85	2	1,00x10 ³	0	0	0	
	65	1	0	0	0	0	

+, coloração gram-positivo; -, coloração gram-negativo; BPP=bacilo-preto-pigmentado; 0=não foi identificada nenhuma unidade formadora de colônia com a respectiva morfologia

Tabela 12. Número de ufc/ml das coletas finais do grupo 1(HC+PMCC) e do grupo 2 (CHX), distribuídas de acordo com o morfotipo bacteriano. As unidades formadoras de colônia passíveis de identificação também estão apresentadas na tabela

Paciente	Dente	Grupo	Morfotipos (ufc/mL)				Identificação
			Coco +	Coco -	Bacilo +	Bacilo -	
1	75	2	3,33x10 ⁴	0	0		
	55	1	5,00x10 ⁵	0	0	4.66x10 ⁵ 3.00x10 ⁵	
2	85	2	0	0	0	6.00x10 ⁵ *	* <i>F. nucleatum</i>
	65	1	1.00x10 ³	0	0	0	
3	65	2	0	0	0	0	
	54	1	1.66x10 ³	0	2.66x10 ³	0	
4	55	1	0	0	0	0	
	85	2	0	0	0	6.66x10 ³	
5	55	2	3.33x10 ⁴	0	3.33x10 ⁴ 3.33x10 ⁴	3.33x10 ⁴	
	64	1	0	0	0	0	
6	54	1	3.33x10 ³		0	0	
	65	2	0	3.33x10 ²	0	6.66x10 ²	
7	74	2	3.33x10 ³	0	0	3.33x10 ³	
	85	1	3.33x10 ³	0	0	3.33x10 ³	
8	74	1	3.33x10 ²	0	0	0	
	64	2	0	0	0	0	
9	85	2	6.66x10 ³	0	0	0	
	75	1	0	4.00x10 ³	0	8.33x10 ³ 3.33x10 ²	
10	85	1	0	0	0	3.33x10 ² 3.33x10 ² *	* <i>F. nucleatum</i>
	75	2	0	0	6.66x10 ²	6.66x10 ² *	*BPP
11	84	1	0	6.66x10 ² 3.33x10 ²	0	0	
	74	2	0	2.66x10 ⁵ 3.00x10 ⁵	0	0	
12	85	2	0	3.33x10 ² 3.33x10 ²	0	0	
	74	1	0	0	0	0	
13	85	1	0	0	6.00x10 ³ 4.00x10 ³	5.00x10 ³ * 9.00x10 ³	*BPP
	55	2	0	0	0	0	
14	85	2	0	0	0	0	
	65	1	0	0	0	0	

+, coloração gram-positivo; -, coloração gram-negativo; BPP=bacilo-preto-pigmentado; 0=não foi identificada nenhuma unidade formadora de colônia com a respectiva morfologia

Tabela 13. Número de ufc/ml das coletas iniciais e finais do grupo controle, distribuídas de acordo com o resultado do teste de coloração de gram

Paciente	Dente	Coleta Inicial (ufc/mL)				Coleta Final (ufc/mL)			
		Coco +	Coco -	Bacilo +	Bacilo -	Coco +	Coco -	Bacilo +	Bacilo -
1	74	3.33x10 ²	6.66x10 ³	0	0	3.33x10 ³	0	3.33x10 ³	0
		3.33x10 ²				1.33x10 ⁴			
		6.66x10 ²							
2	65	1.00x10 ⁵	0	0	0	1.00x10 ⁴	0	0	0
3	85	1.00x10 ⁴	0	0	0	0	1.66x10 ⁴	0	0
		6.66x10 ⁴							
4	85	3.33x10 ³	0	1.00x10 ⁴	0	1.00x10 ⁴	0	0	0
5	54	1.00x10 ⁴	0		0	1.00x10 ⁴	0	0	0
6	64	0	0	3.66x10 ⁶	3.33x10 ⁵	1.00x10 ⁵	0	0	0
7	75	0	0	0	3.33x10 ²	0	0	0	0
8	75	3.33x10 ³	0	0	0	0	0	0	0
9	85	1.66x10 ³	0	0	0	6.66x10 ²	0	0	

+, coloração gram +; -, coloração gram -; 0=não foi identificada nenhuma ufc com a respectiva morfologia

5.9 Avaliação do desfecho do tratamento (sucesso ou insucesso)

Após 6 a 12 meses de acompanhamento clínico e radiográfico, dos 37 dentes tratados, 30 dentes (81,08%) foram considerados como “sucesso” terapêutico segundo os critérios avaliados, previamente citados. Em contrapartida, observou-se “insucesso” em 7 unidades dentárias (18,91%). Quando apenas os critérios clínicos foram analisados, 4 dentes tiveram falha em seus tratamentos, 3 destes devido à presença de mobilidade no acompanhamento de 12 meses e 1 (um) devido à presença de dor no acompanhamento de 12 meses. Radiograficamente, o critério que mais acarretou “insucesso” no tratamento foi a presença, ou não desaparecimento, de lesão periapical nos exames radiográficos de acompanhamento. Lesão periapical foi observada em 6 casos de insucesso.

Quando os tipos de tratamento foram analisados (HC+PMCC, CHX ou Controle), verificou-se que para o grupo de dentes tratados com HC+PMCC, a taxa de sucesso foi de 85,71% (12 dentes). Já para o grupo tratado com CHX, a taxa foi de 78,57% (11 dentes). O grupo controle (sessão única) obteve uma taxa de sucesso de 77,77% (7 dentes). As tabelas 14 e 15 mostram o acompanhamento clínico e radiográfico de cada dente tratado segundo os diversos critérios considerados e de acordo com o tratamento realizado (HC+PMCC, CHX ou sessão única).

Tabela 15. Acompanhamento clínico e radiográfico de até 6 meses de dentes tratados em sessão única (grupo controle)

Paciente	Dente	Critérios Clínicos												Critérios Radiográficos									Desfecho**
		Fístula			Abscesso			Mobilidade			Dor			Reabsorção			Lesão			Espessamento			
		Tempo			Tempo			Tempo			Tempo			Tempo			Tempo						
		1*	3*	6*	1	3	6	1	3	6	1	3	6	1	3	6	1	3	6	1	3	6	
1	74	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	I
2	65	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S
3	85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	I
4	85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S
5	54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S
6	64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S
7	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	S
8	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S
9	85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S

* Acompanhamento de 1, 3, 6; ** Desfecho refere ao sucesso (S) ou insucesso (I) da pulpectomia. Insucesso equivale à presença ou a ausência de regressão de no mínimo um dos critérios adotados; *** +, presença; -, ausência; s/a, sem acompanhamento.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo buscou avaliar a eficácia da clorexidina e do hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado como medicações intracanaís em dentes decíduos em um ensaio clínico, randomizado, *split-mouth*. Vários trabalhos buscaram avaliar a eficácia desses dois medicamentos (SIQUEIRA; UZEDA, 1996, 1997; BARBOSA *et al.*, 1997; GOMES *et al.* 2002; FARIA *et al.*, 2005; CHU *et al.*, 2006; ÖNCAG; COGULU; UZEL, 2006; MANZUR *et al.*, 2007; SIQUEIRA JÚNIOR; MAGALHÃES; RÔÇAS, 2007), mas o presente trabalho é o primeiro ensaio clínico pediátrico no qual os dois medicamentos testes foram utilizados no mesmo paciente com o intuito de reduzir as diferenças e vieses oriundos do indivíduo, capazes de influenciar o sucesso da terapêutica. Portanto, em estudos desta natureza é assegurada a equivalência dos grupos comparados. Na presente pesquisa, os pacientes não foram divididos entre os grupos experimentais aleatoriamente, uma vez que um mesmo indivíduo participou dos dois grupos experimentais (estudo *split-mouth*): um dente com necessidade de pulpectomia recebeu o tratamento com o hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado, e o outro dente também com necessidade de pulpectomia recebeu o tratamento com a clorexidina. A randomização ocorreu na escolha aleatória do dente que iria receber uma das medicações a serem testadas. No desenho de estudo *split-mouth*, a boca é dividida em hemiarcadas, quadrantes ou sextantes, nos quais diferentes tratamentos são aplicados. Quando este tipo de estudo é escolhido, a eficiência estatística pode ser aumentada, uma vez que o paciente pode ter controle de si mesmo, diminuindo a necessidade de um grande número de participantes (LESAFFRE *et al.*, 2007).

O tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar deve estar direcionado para a eliminação de microorganismos dos canais radiculares. Apesar do preparo químico-mecânico dos canais ser efetivo na redução do número de bactérias nos canais radiculares, bactérias podem permanecer viáveis após a instrumentação e irrigação dos canais e, dessa forma, a medicação intracanal atua como um valioso adjunto na desinfecção dos canais (BYSTROM; SUNDQVIST, 1981; SALEH *et al.*, 2004). No presente estudo, foi observada a presença de bactérias (EGM e/ou bactérias anaeróbias) em quase todas as amostras obtidas na coleta inicial, achado semelhante ao de outros estudos, que verificaram a presença de

bactérias na coleta inicial variando de 92% a 99% (PAZELLI *et al.*, 2003; KVIST *et al.*, 2004; FERRARI; CAI; BOMBANA, 2005; CHU *et al.*, 2006).

Culturas negativas (ausência de bactérias), nas coletas iniciais e finais, não implicam em esterilidade da amostra. Isto se deve a limitações do protocolo experimental, uma vez que as amostras são obtidas somente do canal principal. Logo, outras regiões do sistema de canais radiculares, que também possuem bactérias, não podem ser atingidas pelos procedimentos de coleta (SIQUEIRA JÚNIOR; MAGALHÃES; RÔÇAS, 2007). Para minimizar esta limitação, em nosso estudo, as coletas finais foram realizadas 48 horas após a remoção da medicação intracanal, como recomendado por Leonardo *et al.* (1998). Segundo estes autores, testes microbiológicos realizados imediatamente após a intervenção endodôntica não refletem a condição microbiológica real do sistema de canais radiculares. Outro fator que pode ocasionar culturas negativas é uma quantidade de bactérias abaixo do nível de sensibilidade dos métodos de cultura bacteriana ou bactérias incapazes de sobreviver sob condições laboratoriais (SIQUEIRA JÚNIOR; MAGALHÃES; RÔÇAS, 2007).

No presente estudo, grande parte das amostras iniciais apresentou algum nível de contaminação por EGM. Cohen, Jores e Calisti, em um estudo pioneiro em 1960, verificaram a presença de *Streptococcus salivarius* em 70% das amostras, sendo este o microorganismo mais isolado nos canais radiculares. Marsh e Largent (1967) verificaram a presença de *Streptococcus* em 82% dos espécimes (gênero mais frequentemente isolado). Acredita-se que estes achados se devem ao fato da inexistência, na época, de corretas técnicas de cultura de anaeróbios estritos. Atualmente, é consenso na literatura que a infecção dos canais radiculares é polimicrobiana, com prevalência de microorganismos anaeróbios (SUNDQVIST, 1994; GOMES *et al.* 2004). Em estudos recentes de prevalência bacteriana nos canais radiculares decíduos com necrose pulpar, EGM foi encontrado em 48,4% (PAZELLI *et al.*, 2003) e 30% (SILVA *et al.*, 2006) dos casos. Diferenças na prevalência desses microorganismos podem ser explicadas pelo fato que, em casos em que o número de microorganismos encontrados foi elevado, isto provavelmente se deve a uma exposição direta dos canais radiculares à cavidade oral, o que aumentaria a prevalência de EGM. Um estudo de prevalência bacteriana em canais radiculares de dentes permanentes revelou uma prevalência de 53,3% do gênero *Streptococcus*, porém apenas 3,33% de EGM (GOMES *et al.*, 2004). A diferença entre a anatomia da câmara radicular e canais radiculares de dentes decíduos e permanentes pode explicar o fato de os dentes decíduos apresentarem maiores

níveis de EGM, pois possuem câmaras pulpares largas e amplas, o que propicia um maior contato com a cavidade oral.

A escolha do hidróxido de cálcio como medicação intracanal nesse estudo foi devido à sua grande popularidade e utilização em nível mundial. Porém, várias pesquisas e revisões sistemáticas atestaram a ineficácia desta medicação na redução de microorganismos dos canais radiculares, especialmente *E. faecalis*, sugerindo a adição de alguma substância que pudesse melhorar a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio (HAAPASALO; ØRSTAVIK, 1987; SAFAVI; SPANGBERG; LANGELAND, 1990; HELING *et al.*, 1992; PETERS *et al.*, 2002; SATHORN; PARASHOS; MESSER, 2007; BLOME *et al.*, 2008). O Paramonoclorofenol canforado foi a substância escolhida em nosso estudo para ser associado ao hidróxido de cálcio (Callen PMCC®) e, assim, promover uma ação antibacteriana mais efetiva. Esta medicação, associada ao preparo biomecânico dos canais, reduziu significativamente os níveis de bactérias anaeróbias, em concordância com os achados de outros estudos (SIQUEIRA; UZEDA, 1996, 1997; GOMES *et al.* 2002; SIQUEIRA JÚNIOR; MAGALHÃES; RÔÇAS, 2007). Porém, o Callen PMCC® foi ineficaz na redução de EGM. Alguns fatores podem ser considerados responsáveis pela ineficácia desta medicação, como a neutralização da medicação por produtos do metabolismo dessas bactérias (NAKAJO *et al.*, 2004), resistência bacteriana intrínseca à medicação ou alteração da expressão de gens bacterianos que permitiram a elas sobreviver às mudanças ambientais promovidas pelo hidróxido de cálcio (SIQUEIRA; LOPES, 1999).

A necessidade de novos materiais que possam ser utilizados como medicação intracanal e que venham superar as limitações das medicações já existentes fez com que a clorexidina fosse testada em nosso estudo. A clorexidina a 1% foi testada na forma gel, pois a viscosidade do gel se adapta melhor aos canais radiculares e promove uma melhor desinfecção que a sua forma líquida, pois além de uma melhor ação antibacteriana, também pode atuar como lubrificante durante a instrumentação (FERRAZ *et al.*, 2001). No presente estudo, verificou-se uma redução nos números de EGM com a utilização da clorexidina gel a 1% como medicação intracanal. Porém, observou-se apenas uma tendência à redução de bactérias anaeróbias com o uso da referida medicação, diferentemente dos achados relatados por diversos autores (ÖNCAG; COGULU; UZEL, 2006; WANG *et al.*, 2007; MANZUR *et al.*, 2007). No estudo conduzido por Öncag, Cogulu e Uzel (2006), foi verificada a redução bacteriana apenas para o microorganismo *E. faecalis*, diferentemente da presente pesquisa que

observou os níveis de bactérias anaeróbias. Nos estudos de Wang *et al.* (2007) e Manzur *et al.* (2007), a clorexidina foi utilizada na concentração de 2%, ou seja, em uma concentração maior do que aquela que foi utilizada em nosso estudo, o que pode explicar as diferenças encontradas.

Após a aplicação da medicação intracanal (hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado ou clorexidina gel), 71,42% dos canais ainda possuíam algum nível de contaminação por bactérias anaeróbias, diferentemente dos resultados encontrados por outros autores, que verificaram a presença de bactérias remanescentes em 26,7% (BARBOSA *et al.*, 1997) e 26% dos canais (REIT; DAHLÉN, 1988). Sjögren *et al.* (1991) verificaram a eliminação total das bactérias em 100% dos casos. Esta grande quantidade de bactérias remanescentes observada em nosso estudo pode ser explicada pelo fato de que, diferente dos estudos citados anteriormente, a presente pesquisa foi conduzida em dentes decíduos. O tratamento endodôntico de molares decíduos é mais complexo, pois os dentes decíduos são menores em todas as dimensões; o esmalte e a dentina da câmara coronária são mais finos e as raízes mais divergentes, para permitir o desenvolvimento do dente sucessor, havendo grande quantidade de canais acessórios presentes na região da furca radicular (GOERIG; CAMP, 1983). O contraste dos níveis encontrados em nosso estudo também pode ser explicado pela diferente metodologia aplicada nos outros estudos, em que apenas um grupo restrito de bactérias foi analisado, diferente do nosso estudo no qual as bactérias anaeróbias foram analisadas em conjunto.

Segundo Siqueira Júnior e Lopes (1999), bactérias podem sobreviver após o uso da medicação intracanal por diferentes razões: 1) espécies bacterianas presentes em canais radiculares infectados podem ser resistentes a medicação intracanal utilizada; 2) bactérias podem estar contidas em áreas de variações anatômicas inacessíveis a medicação; 3) o medicamento pode ser neutralizado por componentes teciduais e por bactérias e seus produtos e subprodutos, perdendo seu efeito antibacteriano; 4) esses medicamentos podem permanecer no sistema de canais radiculares por tempo insuficiente para alcançar e destruir as bactérias; e 5) bactérias podem alterar seu padrão de expressão genética após mudanças nas condições ambientais, permitindo-as sobreviver em ambientes mesmo em condições desfavoráveis.

O controle do presente estudo consistiu em dentes que foram tratados endodonticamente em uma única sessão, sem a utilização de medicação intracanal. Neste grupo, a redução bacteriana foi obtida apenas com o preparo químico-mecânico do canais, ou

seja, através de instrumentação e irrigação. Em contrapartida aos achados de nosso estudo, Manzur *et al.* (2007) obtiveram uma eliminação na ordem de 66%, utilizando em sua amostra dentes permanentes uni e multiradiculares e uma solução de hipoclorito de sódio a 1% como solução irrigadora. Siqueira Júnior, Magalhães e Roças (2007) verificaram 45,5% de eliminação bacteriana após instrumentação/irrigação, na qual a solução irrigadora foi o hipoclorito de sódio a 2,5% e a amostra era composta de dentes permanentes uniradiculares. Wang *et al.* (2007) obtiveram uma eliminação bacteriana em 90,5% dos dentes após instrumentação e irrigação com clorexidina gel a 2% (endogel), utilizando como amostra dentes permanentes uni e multiradiculares. Faria *et al.* (2005) verificaram uma eliminação dos microorganismos em 20% das amostras após a instrumentação e irrigação com hipoclorito de sódio a 2,5%, sendo a amostra da pesquisa dentes decíduos uni e multiradiculares. Em nosso estudo, a solução irrigadora utilizada foi o hipoclorito de sódio a 1%, e a amostra consistiu de molares decíduos.

Segundo Peters *et al.* (2002), as diferenças observadas entre os percentuais de redução do número de microorganismos após a instrumentação podem estar associadas as diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e a sistemas de irrigação. A diversidade de amostras estudadas (dentes decíduos e permanentes, uni e multiradiculares) é outro fator que pode estar relacionado aos diferentes resultados encontrados nas pesquisas citadas. No presente trabalho não houve redução significativa dos níveis de EGM e de bactérias anaeróbias no grupo controle. Alguns fatores podem explicar a ineficácia da instrumentação/irrigação na eliminação de microorganismos dos canais radiculares: 1) morfologia irregular dos canais radiculares, razão pela qual as limas e as soluções irrigadoras não atingem todas as depressões e anfractuosidades dos canais, permanecendo nichos de microorganismos em suas paredes; 2) natureza difusa da infecção pelo sistema de canais radiculares, havendo regiões inacessíveis a ação imediata dos antisépticos intracanaís; e 3) presença de sangue, exsudato e restos teciduais (SOARES, 2002).

Em nosso estudo, foi observada diferença estatisticamente significante na redução de EGM quando os grupos 2 (CHX) e 3 (Controle) foram comparados, resultado já esperado haja visto o conhecido efeito antimicrobiano da clorexidina frente a EGM (EMILSON, 1994). Porém, não foi observada diferença significante na redução de EGM quando os grupos 1 (HC+PMCC) e 2 (CHX) e quando os grupos 1 (HC+PMCC) e 3 (Controle) foram comparados. Também não foi observada diferença quando as reduções dos níveis de

anaeróbios observados nos três grupos foram comparadas. Öncag, Cogulu e Uzel (2006) observaram que a clorexidina (sozinha ou associada ao hidróxido de cálcio) teve um efeito significativamente melhor que o hidróxido de cálcio. Diferentemente do estudo citado anteriormente, na presente pesquisa, o hidróxido de cálcio foi testado em associação ao paramonoclorofenol canforado, um potente agente antimicrobiano, explicando a razão da não inferioridade do hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado frente a clorexidina.

Observou-se uma maior predominância de cocos gram-positivos antes e após a aplicação do tratamento, estando este resultado de acordo com outros estudos (SUNDQVIST, 1994; GOMES *et al.*, 2004, FERRARI; CAI; BOMBANA, 2005; CHU *et al.*, 2006). Segundo De Paz (2004), isto ocorre porque bactérias gram-positivas possuem a capacidade de alterar suas demandas nutricionais em períodos de inanição, limitando a quantidade de nutrientes ingeridos e armazenando a energia usada no metabolismo, possibilitando-as sobreviver por longos períodos; algumas espécies são alcalino-resistentes, como o *Enterococcus faecalis* podendo sobreviver no interior do canal, mesmo após o uso do hidróxido de cálcio como medicação intracanal; espécies podem adaptar-se a ambientes alcalinos através da manutenção de uma homeostasia entre o pH intra e extracelular; e as espécies podem formar biofilmes, protegendo-se mutuamente. Porém, quando somente os casos tratados com clorexidina foram analisados, observou-se uma maior predominância de bacilos gram-negativos após o tratamento. Isto provavelmente se deve ao fato da clorexidina apresentar maior ação contra microorganismos gram-positivos (ATHANASSIADIS; ABBOTT; WALSH, 2007).

Em contradição aos achados de nosso estudo, no qual o microorganismo *F. nucleatum* foi observado em um número mínimo de amostras, Sundqvist (1994) observou a presença dessa bactéria em 48% das amostras. Gomes *et al.* (2004), assim como a presente pesquisa, relataram uma baixa prevalência do referido microorganismo (11,7%). Tanto o estudo de Sundqvist (1994) como o de Gomes *et al.* (2004) foram conduzidos utilizando dentes permanentes em sua amostra, diferentemente do pesquisa por nós realizada.

Os bacilos pretos-pigmentados (BPP) também foram encontrados em poucas amostras, em desacordo com o relatado por Pazelli *et al.* (2003) e Silva *et al.* (2006), que relataram a presença desses microorganismos em 35,5% e 30% dos dentes decíduos estudados, respectivamente. A baixa prevalência dessas bactérias observada em nosso estudo

pode ser explicada pelas específicas necessidades nutricionais dos BPP, como hemina e vitamina K. (SUNDQVIST, 1994). A hemina é originada da quebra da hemoglobina e foi incorporada ao meio de cultura utilizado na pesquisa (Brucella ágar). Porém, a vitamina K é oriunda dos produtos metabólicos de outras bactérias, como *C. rectus*. A possível ausência dessa bactéria e, conseqüentemente, da vitamina K podem ter influenciado na baixa prevalência de BPP em nosso estudo.

Segundo Goerig e Camp (1983), para o tratamento endodôntico de dentes decíduos serem considerados um sucesso, o dente tratado deve ser assintomático, sem mobilidade e livre de qualquer patologia. Na presente pesquisa, os referidos fatores foram analisados para considerar qual o desfecho do tratamento (sucesso ou insucesso), além das características radiográficas, como aparecimento ou progressão de lesões patológicas (reabsorção patológica das raízes, lesão periapical e espessamento do ligamento periodontal). Moskovitz, Sammara e Holan (2005) analisaram 174 dentes decíduos, tratados por meio de pulpectomia, após um período de acompanhamento de, no mínimo, 6 meses. Os autores encontraram uma taxa de sucesso de 82%, taxa esta semelhante a encontrada em nosso estudo. Porém, no estudo de Moskovitz, Sammara e Holan, todos os dentes foram tratados em sessão única e a amostra era composta tanto de dentes anteriores como posteriores. Quando consideramos a taxa de sucesso obtida em nosso estudo somente no tratamento em sessão única, os autores referidos anteriormente obtiveram um maior sucesso no tratamento proposto.

Imura *et al.* (2007) apresentaram em seu estudo uma taxa de sucesso de 91,45%. A amostra do estudo era composta de dentes permanentes, tratados em uma ou mais sessões, e também abrangia casos de retratamento. Diferentemente do nosso estudo, os autores verificaram uma taxa de sucesso maior no tratamento executado em apenas uma sessão do que no tratamento realizado em duas ou mais sessões (94,75% e 89,5%, respectivamente). Taxa de sucesso semelhante foi verificada por Field, et al., 2004 (89,2% em 223 casos tratados em sessão única). Weiger *et al.* (2000) também verificaram maiores taxas de sucesso em dentes tratados em um sessão (83,3% de sucesso) aos comparados com os tratados em duas sessões (70,9%). Neste último estudo, a medicação intracanal utilizada foi o hidróxido de cálcio por 7 dias, diferente da presente pesquisa que utilizou clorexidina e hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado como medicações intracanaís.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

- A infecção dos canais radiculares de dentes decíduos é de natureza polimicrobiana, sendo necessária a utilização de substâncias com amplo espectro de ação para um correto tratamento endodôntico.
- O tratamento endodôntico radical (pulpectomia) em dentes decíduos apresenta uma alta taxa de sucesso, devendo sempre ser considerada como uma alternativa de tratamento nos casos de necrose pulpar
- A clorexidina gel a 1% é efetiva na redução de EGM nos canais radiculares de dentes decíduos infectados, porém deve ser utilizada com ressalva como medicação intracanal uma vez que mostrou apenas uma tendência a redução de bactéria anaeróbias.
- O hidróxido de cálcio, associado ao paramonoclorofenol canforado, pode ser utilizado como medicação intracanal no tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa necrosada, porém em casos cuidadosamente selecionados, haja vista sua ineficácia na redução de EGM.

Os resultados obtidos sugerem que uma possível associação destes materiais (hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado e clorexidina) promoverá uma ação antibacteriana mais efetiva. Porém, mais estudos clínicos com amostras maiores são necessários para embasar cientificamente as referidas práticas terapêuticas.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY. **Guideline on pulp therapy for primary and immature permanent teeth**. Disponível em: < http://www.aapd.org/media/Policies_Guidelines/G_Pulp.pdf >. Acesso em: 15 Aug. 2009.
- AMORIM, C.V.G.; AUN, C.E.; MAYER, M.P.A. Susceptibility of some oral microorganisms to chlorhexidine and paramonochlorophenol. **Braz. Oral Res.**, v.18, n.3, p.242-246, 2004.
- ANDERSEN, M.; LUND, A.; ANDREASEN, J.O.; ANDREASEN, F.M. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. **Endod. Dental Traumatol.**, v.8, p. 104-108, 1992.
- ANDREW, P. The treatment of infected pulps in deciduous teeth. **Br. Dent. J.**, v.98, p.122, 1955.
- ASS, J.A.; PASTER, B.J.; STOKES, L.N.; OLSEN, I.; DEWHIRST, F.E. Defining the normal bacteria flora of the oral cavity. **J. Clin. Microbiol.**, v.43, n.11, p. 5721-5732, 2005.
- ATHANIASSIADIS, B.; ABBOTT, P.V.; WALSH, L.J. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. **Aust. Dent. J.**, v.52, Suppl., p. 64-82, 2007.
- BAKER, B.C.W.; PARSONS, K.C.; MILLS, P.R.; WILLIAMS, G.L. Anatomy of root canals. IV deciduous teeth. **Aust. Dent. J.**, v.20, p. 101, 1975.
- BALLAL, V.; KUNDABALA, M.; ACHARYS, S.; BALLAL, M. Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. **Aust. Dent. J.**, v.52, n.2, p. 118-121, 2007.
- BARBOSA, C.A.M.; GONÇALVES, R.B.; SIQUEIRA JÚNIOR, J.F.; UZEDA, M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament – A clinical and laboratory study. **J. Endod.**, v. 23, n.95, p.297-300, 1997.
- BARTHEL, C.R.; LEVIN, L.G.; REISNER, H.M.; TROPE, M. TNF-alpha release in monocytes after exposure to calcium hydroxide treated Escherichia coli LPS. **Int. Endod. J.**, v.30, n.3, p. 155-159, 1997.
- BARTHEL, C.R.; ZIMMER, S.; ZILLIGES, S.; SCHILLER, R.; GÖBEL, U.B.; ROULET, J.F. In situ antimicrobial effectiveness of chlorhexidine and calcium hydroxide: gel and paste versus gutta-percha points. **J. Endod.**, v. 28, n.6, p. 427-430, 2002.

- BASRANI, B.; SANTOS, J.M.; TJÄRDERHANE, L.; GRAD, H.; GORDUYSUS, O.; HUANG, J.; LAWRENCE, H.P.; FRIEDMAN, S. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 94, p.240-245, 2002.
- BELANGER, G.K. Pulp therapy for the primary dentition. In: PINKHAM, J.R. **Pediatric Dentistry**. Filadélfia: Saunders, 1988. p. 257-267.
- BENFATTI, S.V.; ANDRIONI, J.N. "In Vitro" study of drugs used in endodontic treatment of deciduous teeth. **Rev. Ass. Paul. Cirurg. Dent.**, v.23, p.213-218, 1969.
- BEVELANDER, G.; BENZER, D. Morphology and incidence in secondary dentin in human teeth. **J.A.D.A.**, v.30, p.1079, 1943.
- BIRCH, R.H.; MELVILLE, T.H.; NEUBERT, E.W. A comparison of root canal and apical lesion flora. **Brit. Dent. J.**, v.116, p.350-352, 1964.
- BLOME, B.; BRAUN, A.; SOBARZO, V.; JEPSEN, S. Molecular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using real-time polymerase chain reaction. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.23, p.384-390, 2008.
- BONOW, M.L.M.; PINTO, A.C.; BAMMANN, L.L.: Antimicrobial activity of drugs used in pulp therapy of deciduous teeth. **Braz. Endod. J.**, v.1, n.1, p. 44-48, 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Projeto SB Brasil 2003**: Condições de saúde bucal da população brasileira 2002-2003: Resultados Principais. Brasília, DF, 2004.
- BROOK, I.; STEPHEN, G.; RAYMOND, B.K. Bacteriology of acute periapical abscess in children. **J. Endod.**, v.7, n.8, p.378-380, 1981.
- BYSTRÖM, A.; CLAESSION, R.; SUNDQVIST, G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.1, p.170-175, 1985.
- BYSTROM, A.; SUNDQVIST G. Bacteriological evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. **Scand. J. Dent. Res.**, v. 89, p.321-328, 1981.
- CHU, F.C.F.; LEUNG, W.K.; TSANG, P.C.S.; CHOW, T.W.; SAMARANAYAKE, L.P. Identification of cultivable microorganisms from root canals with apical periodontitis following two-visit endodontic treatment with antibiotics/steroid or calcium hydroxide dressings. **J. Endod.**, v.32, n.1, p.17-23, 2006.
- COGULU, D.; UZEL, A.; ONCAG, O.; ERONAT, C. PCR-based identification of selected pathogens associated with endodontic infections in deciduous and permanent teeth. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.106, n.3, p. 443-449, 2008.

COHEN, M.M.; JORESS, S.M.; CALISTI, L.P. Bacteriologic study of infected deciduos molars. **Oral Surg.**, v.13, n.11, p.1382-1386, 1960.

COLL, J.A.; SADRIAN, R. Predicting pulpectomy success and its relationship to exfoliation and succedaneous dentition. **Pediatr. Dent.**, v.18, n.1, p.57-63, 1996.

COSER, R.M.; GIRO, E.M.A. Tratamento endodôntico de molares decíduos humanos com necrose pulpar e lesão periapical. **PGR Pós Grad. Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos**, v.5, n.1, p. 84-92, jan./abr 2002.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins Pathologic Basis of Disease**. 6^a ed. Filadélfia, W.B. Saunders Company, 1999.

CUNHA, C.B.C.S.; BARCELOS, R.; PRIMO, L.G. Soluções irrigadoras e materiais obturadores utilizados na terapia endodôntica de dentes decíduos. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.5, n.1, p. 75-83, jan./abr 2005.

CVEK, M.; HOLLENDER, L.; NORD, C.E. Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. VI. A clinical, microbiological and radiological evaluation of treatment in one sitting of teeth with mature or immature root. **Odontol. Revy.**, v.27, n.2, p.93-108, 1976.

DE PAZ, L.C. Gram-positive organisms in endodontic infections. **Endod. Topics**, v. 9, p. 79-96, 2004.

DYNES, J.J.; LAWRENCE, J.R.; KORBER, D.R.; SWERHONE, G.D.; LEPPARD, G.G.; HITCHCOCK, A.P. Quantitative mapping of chlorhexidine in natural river biofilms. **Sci. Total Environ.**, n.369, p. 369-383, 2006.

EDWARD, S.; NORD, C.E. Identification and characterization of microorganisms isolated from infected primary teeth. **J. Int. Ass. Dent. Child.**, v.3, p.15-18, 1972.

EMILSON, C.G. Potencial efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. **J. Dent. Res.**, v.73, n.3, p. 682-691, 1994.

ERCAN, E.; OZEKINCI, T.; ATAKUL, F.; GÜL, K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. **J. Endod.**, v.30, n.2, p.84-87, 2004.

ESTRELA, C.; OZEKINCI, T.; ATAKUL, F.; GÜL, K.. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. **J. Endod.**, v.24, n.1, 15-17, 1998.

ESTRELA, C.; BAMMANN, L.L.; PIMENTA, F.C.; PÉCORA, J.D. Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes. **Int. Endod. J.**, v.34, p. 341-345, 2001.

- ESTRELA, C.; ESTRELA, C.R.A.; BAMMANN, L.L.; PECORA, J.D. Two methods to evaluate the antimicrobial action of calcium hydroxide paste. **J. Endod.**, v. 27, n.12, p.720-723, 2001.
- ESTRELA, C.R.A. ESTRELA, C.; REIS, C.; BAMMANN, L.L.; PÉCOR, J.D. Control of microorganisms in vitro by endodontic irrigants. **Braz. Dent. J.**, v.14, n.3, p.187-192, 2003.
- EVANS, M.D.; BAUMGARTNER, J.C.; KHEMALEELAKUL, S.U.; XIA, T. Efficacy of calcium hydroxide:chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. **J. Endod.**, v. 29, n.5, p.338-339, 2003.
- FABRICIUS L.; DAHLÉN, G.; HOLM, S.E.; MÖLLER, A.J.R Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. **Scand. J. Dent. Res.**, v.90, p. 200-206, 1982.
- FABRICIUS, L.; DAHLÉN, G.; ÖHMAN, A.E.; MÖLLER, A.J.R. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. **Scand. J. Dent. Res.**, v.90, p.134-140, 1982.
- FARIA, G.; NELSON-FILHO, P.; FREITAS, A.C.; ASSED, S.; ITO, I.Y. Antibacterial effect of root canal preparation and calcium hydroxide paste (calen) intracanal dressing in primary teeth with apical periodontitis. **J. Appl. Oral Sci.**, v.13, n.4, p.351-355, 2005.
- FAVA, L.R.G. Pastas de hidróxido de cálcio. Considerações sobre seu emprego clínico. **Rev. Paulista de odontologia**, v.13, p.36-43, 1991.
- FAVA, L.R.G.; SAUNDERS, W.P. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. **Int. Endod. J.**, v.32, p.257-282, 1999.
- FERRARI, P.H.P.; CAI, S.; BOMBANA, A.C. Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections. **Int. Endod. J.**, v.38, p.372-380, 2005.
- FERREIRA, C.M.; DA SILVA ROSA, O.P.; TORRES, S.A.; FERREIRA, F.B.; BERNARDINELLI, N. Activity of Endodontic Antibacterial Agents against Selected Anaerobic bacteria. **Braz. Dent. J.**, v.13, n.2, p.118-122, 2002.
- FERRAZ, C.C.; GOMES, B.P.; ZAIA, A.A.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. **J. Endod.**, v.32, p.452-455, 2001.
- FIELD, J.W.; GUTMANN, J.L.; SOLOMON, E.S.; RAKUSIN, H. A clinical radiographic retrospective assessment of the success rate of single-visit root canal treatment. **Int. Endod. J.**, v.37, p.70-82, 2004.

FOREMAN P.C.; BARNES, F. A review of calcium hydroxide. **Int. Endod. J.**, v.23, p.283-297, 1990.

FREEMAN, B.A.; CRAPO, J.D. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. **Lab. Invest.**, n.47, p. 412-424, 1982.

GENCOGLU, N.; KULEKÇI, G. Antibacterial efficacy of root canal medicaments. **J Nihon Univ. Sch. Dent.**, v.34, n.4, p. 233-236, 1992.

GOERIG, A.C.; CAMP, J.H. Root canal treatment in primary teeth: a review. **Ped. Dent.**, v.5, n.1, p.33-37, 1983.

GOMES, B.P.; LILLEY, J.D.; DRUCKER, D.B. Associations of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. **Int. Endod. J.**, v.29, p. 69-75, 1996a.

GOMES, B.P.F.A.; LILLEY, J.D.; DRUCKER, D.B. Clinical significance of dental root canal microflora. **J. Dent.**, v.24, n.1-2, p.47-55, 1996b.

GOMES, B.P.F.A.; SOUZA, S.F.; FERRAZ, C.C.; TEIXEIRA, F.B.; ZAIA, A.A.; VALDRIGHI, L.; SOUZA-FILHO, F.J. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. **Int. Endod. J.**, v. 36, p.267-275, 2003a.

GOMES, B.P.F.A.; SATO, E; FERRAZ, C.C.R.; TEIXEIRA, F.B., ZAIA, A.A.; SOUZA-FILHO, F.J. Evaluation of time required for recontamination of coronally sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorhexidine. **Int. Endod. J.**, v.36, p.604-609, 2003b.

GOMES, B.P.F.A.; PINHEIRO, E.T.; GADÊ-NETO, C.R.; SOUSA, E.L.R.; FERRAZ, C.C.R.; ZAIA, A.A.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. Microbiological examination of infected dental root canals. **Oral Microbiol. and Immunol.**, v.19, p.71-76, 2004.

GOMES, B.P.F.A.; FERRAZ, C.C.R.; VIANNA, M.E.; ROSALEN, P.L.; ZAIA, A.A.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. *In vitro* antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms. **Braz. Dent. J.**, v.13, n.3, p.155-161, 2002.

GREENSTEIN, G.; BERMAN, C.; JAFFIN, R. Chlorhexidine: an adjunct to periodontal therapy. **J. Periodontol.**, v.57, p.370-376, 1986.

GRENIER, D. Effect of chlorhexidine on the adherence properties of *Porphyromonas gingivalis*. **J. Clin. Periodontol.**, v.23, p.140-142, 1996.

GRENIER, D.; MAYRAND, D. Nutritional relationships between oral bacteria. **Infect. Immun.**, v.53, p.616-620, 1986.

HAAPASALO, H.K., SIRÉN, E.K.; WALTIMO, T.M.T.; ØRSTAVIK, D.; HAAPASALO, M.P.P. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an *in vitro* study. **Int. Endod. J.**, v.33, p.126-131, 2000.

HAAPASALO, M.; ØRSTAVIK, D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. **J. Dent. Res.**, v.66, n.8, p.1375-1379, 1987.

HALLIWELL, B. Oxidants and human disease: some new concepts. **F.A.S.E.B. Journal**, v.1, p. 358-364, 1987.

HASHIOKA, K.; SUZUKI, K.; YOSHIDA, T.; NAKANE, A.; HORIBA, N.; NAKAMURA H. Relationship between clinical symptoms and enzyme-producing bacteria isolated from infected root canals. **J. Endod.**, v.20, n.2, p.75-77, 1994.

HASSELGREN, G.; OLSSON, B.; CVEK, M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. **J. Endod.**, v.14, p.125-127, 1988.

HEITHERSAY, G.S. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. **J. Br. Endod. Society**, v.8, p.74-92, 1975.

HELING, I.; STEINBERG, D.; KENIG, S.; GAVRILOVICH, I.; SELA, M.N.; FRIEDMAN, M. Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and Ca(OH)₂ in preventing secondary infection of dentinal tubules. **Int. Endod. J.**, v.25, p.20-24, 1992.

HIBBARD, E.D.; IRELAND, R.L. Morphology of the root canals of the primary molar teeth. **J. Dent. Child.**, v.24, p.250, 1957.

HOBSON, P. Pulp treatment of deciduous teeth. **Brit. Dent. J.**, v.128, n.5, p.232-238, 1970.

IMLAY, J.A.; LINN, S. DNA damage and oxygen radical toxicity. **Science**, v.240, p.1302-1309.

IMURA, N.; PINHEIRO, E.T.; GOMES, B.P.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C.C.; SOUZA-FILHO, F.J. The outcome of endodontic treatment: a retrospective study of 2000 cases performed by a specialist. **J. Endod.**, n.33, n.11, p. 1278-1282, 2007.

IRELAND, D. Secondary dentin formation in deciduous teeth. **J.A.D.A.**, v.28, p. 1626, 1941.

JUNG,II-Y.; CHOI, B-K.; LEE, S-J.; PARK, D-S. Molecular epidemiology and association of putative pathogens in root canal infection. **J. Endod.**, v.26, n.10, p. 599-604, 2000.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H.R.; FITZGERARD, R.J. The effects of surgical exposures of dental pups in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg.**, v.20, n.3, p.340-349, 1965.

KHADEMI, A.A.; MOHAMMADI, Z.; HAVAEE, A.: Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. **Aust. Endod. J.**, v.32, p.112-115, 2006.

KHEMALEELAKUL, S.; BAUMGARTNER, J.C.; PRUKSAKORN, S.; MAI, C. Identification of bacteria in acute endodontic infections and their antimicrobial susceptibility. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v.94, n.6, p.746-755, 2002.

KILLIAN, M. Degradation of immunoglobulins A1, A2 and G by suspected principal periodontal pathogens. **Infect. Immune**, v.34, p.757-765, 1981.

KOMOROWSKI, R.; GRAD, H.; WU, X.Y.; FRIEDMAN, S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. **J. Endod.**, v.26, n.6, p.315-317, 2000.

KUBOTA, K.; GOLDEN, B.E.; PENUGONDA, B. Root canal filling materials for primary teeth: A review of the literature. **A.S.D.C. J. Dent. Child.**, v.53, n.3, p.225-7, 1992.

KVIST, T.; MOLANDER, A.; DAHLÉN, G.; REIT, C. Microbiological evaluation of one- and two visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a randomized, clinical trial. **J. Endod.**, v.30, n.8, p.572-576, 2004.

LAW, A.; MESSER, H. An Evidence-based Analysis of the Antibacterial Effectiveness of Intracanal Medicaments. **J. Endod.**, v.30, n.10, p.689-694, 2004.

LEONARDO, M.R. **Filosofia do tratamento dos canais radiculares:** Necropulpectomia: conceituação. In: Leonardo, M.R., Leal, J.M. Endodontia: tratamento de canais radiculares. 3ª edição. São Paulo. Panamericana, p. 127-157, 1998.

LEONARDO, M.R.; TANOMARU FILHO, M.; SILVA, L.A.; NELSON FILHO, P.; BONIFÁCIO, K.C.; ITO, I.Y. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. **J. Endod.**, v.25, n.3, p.167-171, 1999.

LESAFFRE, E.; GARCIA ZATTERA, M.J.; REDMOND, C.; HUBER, H.; NEEDLEMAN, I. Reported methodological quality of split-mouth studies. **J. Clin. Periodontol.**, v.34 p.756–761, 2007.

LIN, S.; ZUCKERMAN, O.; WEISS, E.I.; MAZOR, Y.; FUSS, Z. Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release devise to disinfect dentinal tubules. **J. Endod.**, v.29, n.6, p.416-418, 2003.

LINDSKOG, S.; PIERCE, A.M.; BLOMLOF, L. Chlorexidine as a root canal medicament for treating inflammatory lesions in the periodontal space. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.14, p.186-190, 1998.

- LOESCHE, W.J.; GUSBERTI, F.; METTRAUX, G.; HIGGINS, T.; SYED, S. Relationship between oxygen tension and subgingival bacterial flora in untreated human periodontal pockets. **Infect. Immun.**, v.42, p. 659-667, 1983.
- LOPES, H.P.; ESTRELA, C.; SIQUEIRA JÚNIOR, J.F.; FAVA, L.R. Considerações químicas, microbiológicas e biológicas do hidróxido de cálcio. **Odontomaster**, v.1, p.1-17, 1996.
- LOPES, H.P.; SIQUEIRA JÚNIOR, J.F. **Endodontia – Biologia e Técnica**. Editora Médica e Científica Ltda, 1999.
- MANZUR, A.; GONZALES, A.M.; POZOS, A.; HERZOG, D.S.; FRIEDMAN, S. Bacterial Quantification in Teeth with Apical Periodontitis Related to instrumentation and different intracanal medications: a randomized clinical trial. **J. Endod.**, v.33, n.2, p.114-118, 2007.
- MARSH, S.J.; LARGENT, M.D. A bacteriological study of the pulp canals of infected primary molars. **J. Dent. Child.**, v.34, n.6, p.460-470, 1967.
- MC DONALD, R.E.; AVERY, D.R. **Odontopediatria**. Sétima Edição. Rio e Janeiro Editora Guanabara Koogan, 2001, 601p.
- MILLER, W.D. An introduction to the study of the bacteriopathology of the dental pulp. **Dent. Cosmos**, v.36, p.505-528, 1894.
- MOSKOVITZ, M., SAMMARA, E., HOLAN, G. Success rate of root canal treatment in primary molars. **J. Dent.**, v.33, p.41-47, 2005.
- NAKAJO, K.; NAKAZAWA, F.; IWAKU, M.; HOSHINO, E. Alkali-resistant bacteria in root canal systems. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.19, n.6, p.390-394.
- NAUMOVICH, D.B. Surface tension and pH of drugs in root canal therapy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v.16, p.965-968, 1963.
- NEELAKATAN, P.; SANJEEV, K.; SUBBARAO, C.V. Duration-dependent susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide and chlorhexidine gel used as intracanal medicaments: an in vitro evaluation. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.104, n.4, p.138-141, 2007.
- NERWICH, A.; FIQDOR, D.; MESSER, H.H. pH changes in root dentine over a 4-weeks period following root canal dressing with calcium hydroxide. **J. Endod.**, v.19, n.6, p.302-306, 1993.
- O'CONNOR, D.O.; RUBINO, J.R. **Phenolic compounds**. In: Block S.S. Desinfection, Sterilization and preservation. 4ª edição. Filadélfia, USA. Editora Lea & Febiger, 204-224, 1991.
- ÖNÇAĞ, Ö.; HOSGÖR, M.; HILMIOĞLU, S.; ZEKİOĞLU, O.; ERONAT, C.; BURHANOĞLU, G. Comparasion of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. **Int. Endod. J.**, v.36, p.423-432, 2003.

ÖNÇAĞ, Ö.; GOCULU, D.; UZEL, A. Efficacy of various intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* in primary teeth: An in vivo study. **J. Clin. Pediatr. Dent.**, v.30, n.3, p.233-236, 2006.

ØRSTAVIK, D.; KEREKES, M.; MOLVEN, O. Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxide dressing on bacterial infection during treatment of apical periodontitis: a pilot study. **Int. Endod. J.**, v.24, p.1-7, 1991.

PALLOTTA, R.C.; RIBEIRO, M.S.; MACHADO, M.E.L. Determination of the minimum inhibitory concentration of four medicaments used as intracanal medication. **Aust. Endod. J.**, v.33, p.107-111, 2007.

PATERSON, R.C.; WATTS, A. Further studies on the exposed germ-free dental pulp. **Int. Endod. J.**, v.20, n.3, p.112-121, 1987.

PAZELLI, L.C.; FREITAS, A.C.; ITO, I.Y.; SOUZA-GULGEMIN, M.C.M.; MEDEIROS, A.S.; NELSON-FILHO, P. Prevalence of microorganisms in root canals of human deciduous teeth with necrotic pulp and chronic periapical lesions. **Pesq. Odontol. Bras.**, v.17, n.4, p.367-371, 2003.

PETERS, L.B.; VAN WINKELHOFF, A.J.; BUIJS, J.F.; WESSELINK, P.R. Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with peripical bone lesions. **Int. Endod. J.**, v.35, p.13-21, 2002.

RABINOWITCH, B.Z. Pulp management in primary teeth. **Oral Surg.**, n.6, p.542, 1953.

REIT, C.; DAHLÉN, G. Decision making analysis of endodontic treatment strategies in teeth with apical periodontitis. **Int. Endod. J.**, v.21, p.291-299, 1988.

RIBEIRO, D.A.; MARQUES, M.E.A.; SALVADORI, D.M.F. Lack of genotoxicity of formocresol, paramonochlorophenol, and calcium hydroxide on mammalian cells by comet assay. **J. Endod.**, v.30, n.8, p.593-596, 2004.

RIETSCHEL, E.T.; BRADE, H. Bacterial endotoxins. **Sc Am**, v.267, p.54-61, 1992.

ROACH, R.P.; HATTON, J.F.; GILLESPIE, M.J. Prevention of the ingress of a known virulent bacterium into the root canal system by intracanal medicaments. **J. Endod.**, v.27, n.11, p.657-660, 2001.

ROSA, O.P.S.; TORRES, S.A.; FERREIRA, C.M.; FERREIRA, F.B.A. In vitro effect of intracanal medicaments on strict anaerobes by means of the broth dilution method. **Pesq. Odontol. Bras.**, v.16, n.1, p.31-36, 2002.

RUVIÉRE, D.B.; LEONARDO, M.R.; DA SILVA, L.A.; ITO, I.Y.; NELSON-FILHO, P. Assessment of the microbiota in root canals of human primary teeth by checkerboard DNA-DNA hybridization. **J. Dent. Child.**, v.74, n.2, p. 118-123, 2007.

SAFAVI, K.E.; NICHOLS, F.C. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. **J. Endod.**, v.19, p.76-78, 1993.

SAFAVI, K.E.; SPANGBERG, L.S.; LANGELAND, K. Root canal dentinal tubules disinfection. **J. Endod.**, v.16, n.5, p.207-210, 1990.

SALEH, I.M.; RUYTER, I.E.; HAAPASALO, M.; ØRSTAVIK, D. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after canal filling with different root canal sealers in vitro. **Int. Endod. J.**, v.37, p.193-198, 2004.

SASSONE, L.M.; FIDEL, R.A.S.; MURAD, C.F.; FIDEL, S.R.; HIRATA JUNIOR, R. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. **Aust. Endod. J.**, v.34, p.19-24, 2008.

SATHORN, C.; PARASHOS, P.; MESSER, H. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide intracanal dressing: a systematic review and meta-analysis. **Int. Endod. J.**, v.40, p.2-10, 2007.

SATO, T.; HOSHINO, E.; UEMATSU, H.; NODA, T. In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs on bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.8, n.3, p.172-176, 1993.

SCHÄFER, E.; BÖSSMANN, K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.**, v. 31, n.1, p.53-56, 2005.

SEGURA, J.J.; LLAMAS, R.; RUBIO-MANZANARES, A.J.; JIMENEZ-PLANAS, A.; GUERRERO, J.M.; CALVO, J.R. Calcium hydroxide inhibits substrate adherence capacity of macrophages. **J. Endod.**, v.23, p.444-447, 1997.

SILVA, L.A.B.; NELSON-FILHO, P.; FARIA, G.; SOUZA-GULGEMIN, M.C.M.; ITO, I.Y. Bacterial profile in primary teeth with necrotic pulp and periapical lesions. **Braz. Dent. J.**, v.17, n.2, p.144-148, 2006.

SIQUEIRA JÚNIOR, J.F. Endodontic infections: concepts, paradigms and perspectives. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.94, p.281-293, 2002.

SIQUEIRA JUNIOR, J.F. **Tratamento das Infecções endodônticas**. Rio de Janeiro, Brasil, Editora Medsi, 1997.

SIQUEIRA JÚNIOR, J.F.; LOPES, H.P. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. **Int. Endod. J.**, v.32, p.361-369, 1999.

SIQUEIRA JÚNIOR, J.F.; MAGALHÃES, K.M.; RÔÇAS, I.N. Bacterial Reduction in infected root canals treated with 2.5% NaOCl as irrigant and calcium hydroxide/camphorated paramonochlorophenol paste as an intracanal dressing. **J. Endod.**, v.33, n.6, p.667-672, 2007.

SIQUEIRA JÚNIOR, J.F.; UZEDA, M. Desinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. **J. Endod.**, v.22, n.12, p.674-676, 1996.

SIQUEIRA JÚNIOR, J.F.; UZEDA, M. Intracanal Medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. **J. Endod.**, v.23, n.3, p.16-19, 1997.

SJÖGREN, U.; FIGDOR, D.; SPÅNGBERG, L.; SUNDQVIST, G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. **Int. Endod. J.**, v.24, p.119-125, 1991.

SOARES, J.A. Microbiota dos canais radiculares associados as lesões periapicais crônicas e sua significância clínica. **J.B.E.**, v.3, n.9, p.106-117, 2002.

SUNDQVIST, G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v.78, p.522-530, 1994.

SUNDQVIST, G.; CARLSSON, J.; HERRMANN, B.; TÄRNVIK, A. Degradation of human immunoglobulins G and M and complement factors C3 and C5 by black-pigmented Bacteroides. **J. Med. Microbiol.**, v.19, p. 85-94, 1985.

SYED, A.S.; LOESCHE, W.J. Survival of human dental plaque flora in various transport media. **Appl. Microbiol.**, v.24, p.638-644, 1972.

ter STEEG, P.F.; van der HOEVEN, J.S. Development of periodontal microflora on human serum. **Microbiol. Ecol. Health Dis.**, v. 2, p. 1-10, 1989.

TOYOSHIMA, Y.; FUKUSHIMA, H.; INOUE, J.I.; SASAKI, Y.; YAMAMOTO, K.; KATAO, H.; OZAKI, K.; MORITANI, Y.; SAITO, T.; HIEDA, T. A bacteriological study of periapical pathosis on deciduous teeth. **Shoni Shinagoku Zasshi (Jpn. J. Pedod.)**, v.26, n.3, p. 449-458, 1988.

TRONSTAD, L.; ANDREASEN, J.O.; HASSELGREN, G.; KRISTERSON, L.; RIIS, I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. **J. Endod.**, v.7, n.1, p.17-21, 1981.

TRONSTAD, L. Root reabsorption etiology, terminology and clinical manifestations. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.4, p.241-252, 1988.

TROPE, M.; DELANO, E.O.; ORSTAVIK, D. Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single VS. multivisit treatment. **J. Endod.**, v. 25, n.5, p. 345-350, 1999.

VAN RIJKOM H.M.; TRUIN G.J.; VAN'T HOF M.A. A metaanalysis of clinical studies on the caries-inhibiting effect of chlorhexidine treatment. **J. Dent. Res.**, v.75, n.2, p. 790-795, 1996.

VOET, D.; VOET, J.G. **Biochemistry**. 2nd edition. John Wiley & Sons, INC. New York, USA, 1995.

WANG, C.S.; ARNOLD, R.R.; TROPE, M.; TEIXEIRA, F.B. Clinical Efficiency of 2% chlorhexidine gel in reducing intracanal bacteria. **J. Endod.**, v.33, n.11, p.1283-1289, 2007.

WEIGER, R.; ROSENDAHL, R.; LÖST, C. Influence of calcium hydroxide intracanal dressings on the prognosis of teeth with endodontically induced periapical lesions. **Int. Endod. J.**, v.33, p. 219-226, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Water Day 2001- Dental caries: a worldwide epidemic.** Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/oralhealth/en/index1.htm> Acesso em: 10 Aug. 2009.

WUERCH, R.M.N.; APICELLA, M.J.; MINES, P.; YANCICH, P.J.; PASHLEY, D.H. Effect of 2% chlorhexidine gel as an intracanal medication on the apical seal of the root system. **J. Endod.**, v.30, n.11, p.788-791, 2004.

YOSHIDA, M.; FUKUSHIMA, H.; YAMAMOTO, K.; OGAWA, K.; TODA, T.; SAGAWA, H. Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. **J. Endod.**, v.13, n.1, p.24-28, 1987.

Anexo A**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****“ O uso da clorexidina intra-canal em molares decíduos com necrose pulpar – estudo clínico e microbiológico.”**

Seu filho ou filha está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém, ele(a) não deve participar contra vontade própria ou contra a sua vontade. Leia com atenção as informações abaixo, sentindo-se livre para fazer qualquer pergunta que desejar, para que não haja dúvida alguma sobre os procedimentos a serem realizados.

a) O objetivo da pesquisa é avaliar alguns materiais usados no tratamento de “canal” do dente;

b) Durante o estudo você deverá fornecer informação sobre o estado geral de saúde do seu filho(a;)

c) A participação neste estudo consistirá de:

- Exame dentário de seu filho (a) para verificar os dentes presentes na boca, os dentes com cárie e os dentes que precisam de tratamento de “canal”.
- Comparecimento do seu filho (a) à Clínica de odontopediatria da Faculdade de Odontologia nos dias previamente agendados.
- Realização do tratamento de “canal” dos dentes que precisarem.
- Realização de radiografias para verificar o sucesso do tratamento.

d) A participação do seu filho (a) na pesquisa dará a ele (a) o direito não só do tratamento do canal, mas também do tratamento das cáries, e o acompanhamento para a prevenção de novas cáries;

e) Você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação do seu filho (a) neste estudo no momento que desejar, sem necessidade de qualquer explicação;

f) Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo. A Faculdade de Odontologia, Farmácia e Enfermagem (FFOE) não o identificará por ocasião da

exposição e/ou publicação dos mesmos e os dados serão publicados somente em revista científica e/ou congressos científicos não identificando o nome de seu filho (a).

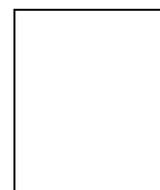
Ao assinar este termo que consta de seu nome, nome de seu filho ou filha, idade, e número do prontuário, você estará declarando que por meio de livre e espontânea vontade sua e de seu filho ou filha, ele(a) estará participando como voluntário do projeto de pesquisa citado acima, de responsabilidade da cirurgiã – dentista Ramille Araújo Lima, aluna de pós-graduação da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, rua Monsenhor Furtado, S/N, Rodolfo Teófilo, CEP 60441-750. Os telefones para contato com o responsável são : (85) 96286458 e (85) 33668408

Fortaleza, ____ de _____ de 200 ____.

Nome da criança _____

Data de nascimento ____/____/____

RG: _____



Assinatura do pai ou responsável

digital

Assinatura da Testemunha 1

Assinatura da Testemunha 2

Assinatura do responsável pelo projeto

Telefone do comitê de ética em pesquisa (COMPEPE) da Faculdade de Medicina da UFC: (85) 33668338

Anexo B**FICHA DE ANAMNESE****DADOS PESSOAIS**

NOME: _____

IDADE _____ DATA DE NASCIMENTO ____/____/____

NOME DO PAI _____

NOME DA MÃE _____

RESPONSÁVEL LEGAL _____

ENDEREÇO _____

TELEFONE PARA CONTATO _____

NOME DA ESCOLA _____

ENDEREÇO DA ESCOLA _____

ESTADO DE SAÚDE GERAL DA CRIANÇA**FAVOR LER E RESPONDER COM ATENÇÃO.**

1) O seu filho ou filha se encontra sob tratamento médico? SIM NÃO
Especifique (caso a sua resposta tenha sido SIM). _____

2) O seu filho ou filha tem alguma doença crônica? SIM NÃO
Especifique (caso a sua resposta tenha sido SIM). _____

3) O seu filho ou filha está tomando algum medicamento (remédio)? SIM NÃO

Especifique (caso a sua resposta tenha sido SIM). _____

4) O seu filho ou filha tem algum tipo de doença alérgica? SIM NÃO

Especifique (caso a sua resposta tenha sido SIM). _____

5) O seu filho ou filha já apresentou alergia a algum tipo de medicamento? SIM NÃO

Identifique o(s) medicamento(s) (caso sua resposta tenha sido SIM).

6) O seu filho ou filha já esteve hospitalizado (a)? SIM NÃO

Especifique o motivo (caso a sua resposta tenha sido SIM). _____

Afirmo que as informações acima são verdadeiras.

Fortaleza, _____ de _____ de 200__

Assinatura

Número do RG

Testemunha1: _____

Testemunha2: _____

Pesquisador: _____

Anexo C

FICHA DE EXAME DENTÁRIO

NOME DA CRIANÇA _____

IDADE _____ DATA DE NASCIMENTO ____/____/____ DATA ____/____/____

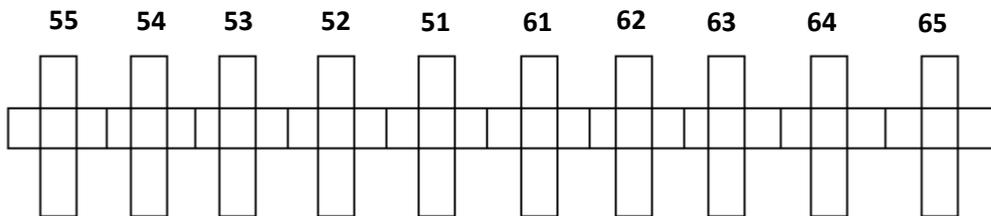
EXAME EXTRA-ORAL

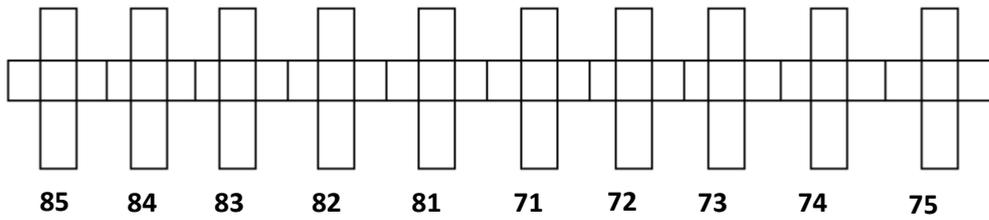
LINFADENOPATIA: PRESENTE AUSENTE

ASSIMETRIA FACIAL POR INFECÇÃO: PRESENTE AUSENTE

TECIDOS MOLES: NORMAIS PATOLÓGICOS

EXAME INTRA-ORAL





- Cor vermelha - corresponde a superfícies cariadas.
- Cor azul - corresponde a superfícies restauradas.
- X de cor azul - corresponde a superfícies ausentes devido à cárie.
- X de cor vermelha – corresponde a superfícies que necessitam de exodontia.
- Um risco contínuo de cor vermelha – dente com necessidade endodôntica.

TRATAMENTO ENDODÔNTICO REALIZADO

DENTE: _____ DATA: ____/____/_____

MEDICAÇÃO INTRA-CANAL UTILIZADA: _____

DENTE: _____ DATA: ____/____/_____

MEDICAÇÃO INTRA-CANAL UTILIZADA: _____

DENTE: _____ DATA: ____/____/_____

MEDICAÇÃO INTRA-CANAL UTILIZADA: _____

OUTROS TIPOS DE TRATAMENTOS REALIZADOS

DENTE: _____ DATA: ____/____/_____

TRATAMENTO: _____

DENTE: _____ DATA: ____/____/____

TRATAMENTO: _____

Anexo D
FICHA DE EXAME RADIOGRÁFICO

NOME : _____

• DENTE: _____

Medicação intra-canal: _____

Rx inicial

Rx da obturação

Rx controle 1 mês

Rx controle 3 meses

____/____/____

____/____/____

____/____/____

____/____/____

Rx controle 6 meses

Rx controle 1 ano

Rx controle 1 ano e 6 meses

____/____/____

____/____/____

____/____/____

OBSERVAÇÕES DURANTE CONTROLE RADIOGRÁFICO:
