PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

AVALIAÇÃO DA INFILTRAÇÃO BACTERIANA POR *ENTEROCOCCUS FAECALIS* EM DENTES COM COROAS, PINOS PROVISÓRIOS E MEDICAÇÃO INTRACANAL

ROSANE TAVARES RUBIÃO DA CUNHA

BELO HORIZONTE
2008

ROSANE TAVARES RUBIÃO DA CUNHA

AVALIAÇÃO DA INFILTRAÇÃO BACTERIANA POR *ENTEROCOCCUS FAECALIS* EM DENTES COM COROAS, PINOS PROVISÓRIOS E MEDICAÇÃO INTRACANAL

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Clínicas Odontológicas – Ênfase em Endodontia.

Orientador: Prof Dr. Eduardo Nunes

BELO HORIZONTE - MG

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA PUC Minas

2008

FICHA CATALOGRÁFICA
Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

Cunha, Rosane Tavares Rubião da
C972a Avaliação da infiltração bacteriana por *enterococcus faecalis* em dentes com coroas, pinos provisórios e medicação intracanal. - Belo Horizonte, 2008.
56f. : il.

Orientador: Eduardo Nunes
Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia.
Bibliografia

1. Endodontia. 2. Hidróxido de cálcio. 3. Canal radicular - Infecções. I. Nunes, Eduardo. II. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDU: 616.314.18

Elaborada pela bibliotecária Erica Fruk Guelfi CRB 6/2068

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu marido Carlos Henrique,
aos meus filhos Luiz Henrique, Francine e Maria Clara.
À Cecília, minha mãe e grande incentivadora.
Ao meu pai, Pedro Paulo, a minha saudosa homenagem.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Ao meu marido e filhos,
por estarem juntos comigo nesta grande jornada que é a vida.

Ao incentivo sempre presente da minha querida mãe, Cecília.

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Nunes,
que tornando possível este trabalho, pôde demonstrar a importância de aspectos éticos e relevantes não somente na vida acadêmica e profissional.

Aos queridos professores do curso de Endodontia,
Frank Ferreira Silveira e Maria Ilma de Souza Côrtes,
por toda dedicação e carinho.

À professora Maria Eugênia Alvarez Leite,
por ter sido uma presença constante e vital, mostrando-se sempre disposta a transpor obstáculos na confecção deste trabalho.

Ao professor Wellington Corrêa Jansen,
por ter colaborado na confecção deste trabalho, cujo tema possui implicações relevantes nas áreas de endodontia e prótese.

À querida amiga e mestre, Xênia Maria Caldeira Brant

A “Zezé”, pelo sorriso sempre disposto e cativante.

A Lílian, pelo companheirismo e amizade. Amigos são para sempre.
À Maria Alice, pelo apoio e disponibilidade.

A Alessandra, Maria Olívia e Daniel que facilitaram o árduo trabalho na microbiologia.

A todos os funcionários da secretária, em especial a Silvânia e Angélica.

Ao CEFET-MG, em especial ao Diretor Geral, Flávio Antônio dos Santos, Regina Rita de Cássia Oliveira e Rosemarie Rocha e Rezende por tornarem possível essa nova empreitada.

À farmácia BS Pharma, pelo apoio durante confecção deste trabalho.

“Não faças de ti
Um sonho a realizar
Vai.
Sem caminho marcado
Tu és o de todos os caminhos
Se apenas uma presença
Invisível presença silenciosa
Todas as coisas esperam a luz,
Sem dizerem que a esperam
Sem saberem que existe.
Todas as coisas esperarão por ti,
Sem te falarem
Sem lhes falarem.”

(Cecília Meireles)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO 9
OBJETIVOS DO ESTUDO 11
CONSIDERAÇÕES GERAIS 12
ABSTRACT 13
REFERÊNCIAS 14
ANEXOS
APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA PUCMINAS..... 17
ARTIGO I 18
ARTIGO II 41

LISTA DE ARTIGOS

Esta dissertação gerou as seguintes propostas de artigos:

I Avaliação da infiltração bacteriana por *Enterococcus faecalis* em dentes com coroas, pinos provisórios e medicação intracanal 18
(A ser submetido à Revista: International Endodontic Journal)

II Medicação intracanal e selamento coronário na terapia endodôntica: revisão de literatura 41
(A ser submetido à Revista: Arquivo Brasileiro de Odontologia – PUC Minas)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar a capacidade em impedir infiltração bacteriana por *Enterococcus faecalis* em dentes com coroas e pinos provisórios, utilizando medicação intracanal de hidróxido de cálcio ($Ca(OH)_2$) associado a diferentes veículos. Foram utilizados 48 caninos extraídos. Após instrumentação, os espécimes foram divididos de forma aleatória em três grupos de acordo com o medicamento intracanal utilizado: (G1) 12 dentes com $Ca(OH)_2$ + propilenoglicol; (G2) 12 dentes com $Ca(OH)_2$ + clorexidina gel 2%; (G3) 12 dentes com $Ca(OH)_2$ + paramonoclorofenol canforado (Calen + PMCC). Coroas e pinos provisórios foram cimentados nos espécimes desses três grupos. Como controle positivo, foram utilizados seis dentes que permaneceram abertos, sem medicamento intracanal, sem coroa e pino provisórios. Como controle negativo, foram utilizados seis dentes hígidos. Os espécimes receberam impermeabilização e, juntamente com a plataforma de inoculação, foram esterilizados. Após montagem na plataforma, de forma a permanecer 3mm apicais da raiz imerso no meio BHI, foi realizada inoculação com *E. faecalis* a cada 3 dias durante o período de 60 dias. Em todos os três grupos experimentais detectou-se infiltração intensificada a partir do 35º dia. O conjunto (dentes com coroas e pinos provisórios e curativo intracanal) foi ineficaz em impedir a infiltração por *E. faecalis.*

Palavras-chave: coroa provisória; endodontia; *Enterococcus faecalis;* hidróxido de cálcio; infiltração bacteriana.

INTRODUÇÃO

Os objetivos principais da terapia endodôntica são a eliminação de microrganismos do sistema de canais radiculares (SCR) e a prevenção de subseqüentes recontaminações. Para alcançá-los deve ser realizada limpeza química, mecânica e formatação dos canais, o uso de medicação intracanal e a obturação tridimensional do SCR (BYSTRÖM; SUNDQVIST, 1981; NEELAKANTAN; SANJEEV; SUBBARAO, 2007).

A grande complexidade morfológica do SCR representa um desafio ao preparo químico e mecânico, contendo áreas não acessíveis aos instrumentos e agentes antibacterianos utilizados. Microrganismos e seus subprodutos, presentes nos canais radiculares infectados, podem permanecer nas ramificações, istmos e até mesmo penetrar no interior dos túbulos dentinários. Após preparo químico-mecânico dos canais, microrganismos residuais, especialmente na porção apical da raiz, podem se multiplicar, chegando ao seu número original em dois a quatro dias, se o canal permanecer vazio, desempenhando importante papel nas infecções persistentes. Objetivando prevenir a recolonização dos canais radiculares, vários autores têm recomendado o uso de medicação intracanal entre sessões (BYSTRÖM; SUNDQVIST, 1981; BYSTRÖM; CLAESSON; SUNDQVIST, 1985; HAAPASALO; ØRSTAVIK, 1987; SJÖGREN *et al*., 1991; BAUMGARTNER; FALKLER, 1991; SJÖGREN *et al.,* 1997; SUNDKVIST *et al.,* 1998; TROPE; DELANO; ØRSTAVIK, 1999; PETERS *et al.,* 2001; TORABINEJAD *et al.,* 2002; EVANS *et al*., 2002; BASRANI *et al.,* 2002; LAW; MESSER, 2004; WU; DUMMER; WESSELINK , 2006).

Em dentes com necrose pulpar, os microrganismos estão em posição privilegiada, estratégica e protegidos da ação do sistema de defesa do hospedeiro. Embora a fonte original da infecção não seja eliminada pelos mecanismos de defesa, o hospedeiro monta uma resposta inflamatória crônica adjacente ao forame apical, impedindo a disseminação da infecção (SJÖGREN *et al*., 1990; SIQUEIRA JR, 2002; SIQUEIRA JR. *et al*., 2004).

Enterococcus faecalis podem invadir os túbulos dentinários e permanecer viáveis por um longo período de tempo, em condições adversas tais como a ausência de nutrientes. A importância clínica destes achados remete à importância

de impedir *in vivo,* condições que permitam o suprimento de nutrientes às bactérias que tenham permanecido nos túbulos dentinários após preparo químico-mecânico dos canais (ØRSTAVIK; HAAPASALO, 1990; LOVE, 2001; GEORGE; KISHEN; SONG, 2005; CHIVATXARANUKUL; DASHPER; MESSER, 2008).

A utilização de uma estratégia efetiva contra microrganismos residuais, resistentes ao preparo químico-mecânico dos canais, se faz necessária. Nesta condição, a utilização de medicamento intracanal com atividade antibacteriana entre sessões, não pode ser negligenciada. O hidróxido de cálcio é o fármaco mais comumente utilizado. Atuando como barreira física, o curativo intracanal com hidróxido de cálcio pode prevenir a reinfecção do canal radicular e interromper o suprimento de nutrientes para as bactérias que nele resistirem (SIQUEIRA JR. e LOPES, 1999; GOMES *et al.,* 2003; ØRSTAVIK; KEREKES; MOLVEN*,* 1991; CHONG e PITT FORD, 1992; TROPE, DELANO; ØRSTAVIK*,* 1999; LAW; MESSER, 2004).

O hidróxido de cálcio apresenta capacidade em induzir formação de tecido mineralizado, moderada ação antibacteriana e capacidade de dissolver tecidos. Possui alto pH, estando suas propriedades biológicas relacionadas à dissociação dos íons cálcio e hidroxila, podendo destruir a membrana celular bacteriana (TRONSTAD *et al.,* 1981; SJOGREN *et al.,* 1991; NERWICH; FIDGOR; MESSER*,* 1993; FAVA; SAUNDERS, 1999; SIQUEIRA JR.; LOPES, 1999; BASRANI; GHANEM; TJÄDERHANE , 2004; ROBERT *et al*., 2005).

O ambiente oral é rico em microrganismos, devendo as restaurações prevenir a penetração de saliva, bactérias, subprodutos bacterianos oriundos da cavidade oral, no sistema de canais radiculares e tecidos perirradiculares. Durante o período em que o medicamento intracanal estiver sendo utilizado, um adequado selamento coronário é fundamental, evitando ou dificultando a infiltração bacteriana. Em dentes com coroas e pinos provisórios, o selamento proporcionado pelo conjunto poderá apresentar a mesma proporção de contaminação de dentes sem restauração (TORABINEJAD; UNG; KETTERING, 1990; CHONG e PITT FORD, 1992; KHAYAT; LEE; TORABINEJAD, 1993; BARRIESHI *et al.*, 1997; DEMARCHI; SATO, 2002; GOMES *et al.* 2003; RÔÇAS; SIQUEIRA JR.; SANTOS, 2004)

O objetivo deste estudo "*in vitro"* foi avaliar a capacidade do curativo de hidróxido de cálcio associado a diferentes veículos, em impedir a penetração de *Enterococcus faecalis*, em dentes com próteses e pinos provisórios.

OBJETIVO DO ESTUDO

Objetivo geral

Verificar o comportamento apresentado por dentes portadores de coroas e pinos provisórios, com medicamento intracanal, frente ao processo de infiltração bacteriana coronal.

Objetivo específico

Avaliar a resistência à infiltração por *E*. *faecalis,* oferecida por pasta de hidróxido de cálcio como medicamento intracanal, associada à propilenoglicol, clorexidina, PMCC, em dentes humanos extraídos, com coroas provisórias retidas por pino intracanal..

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A terapia endodôntica tem como finalidade a eliminação de microrganismos no canal radicular e impedir a sua reinfecção. Como estratégias para alcançar esses objetivos, são utilizados o preparo químico-mecânico e obturação hermética do SCR. Variações anatômicas podem dificultar ou mesmo inviabilizar a completa ação dos instrumentos e agentes antimicrobianos no SCR. Dessa forma, em canais infectados, há a necessidade de utilização de medicação como curativo intracanal para permitir uma desinfecção mais ampla das ramificações e túbulos dentinários.

Bactérias resistentes ao preparo químico-mecânico dos canais radiculares podem permanecer viáveis estabelecendo infecções persistentes. Uma das espécies que mais tem sido relacionada a falhas na terapia endodôntica é *Enterococcus faecalis*, podendo sobreviver nos túbulos dentinários por longo período de tempo, mesmo em condições adversas.

A medicação intracanal entre sessões se estabelece como uma terapia coadjuvante no processo de desinfecção do SCR. O hidróxido de cálcio é o medicamento mais utilizado, sendo questionada a sua capacidade em erradicar alguns tipos bacterianos, especialmente *E. faecalis*. Dessa forma, na tentativa de ampliar sua capacidade antibacteriana, alguns medicamentos como o gluconato de clorexidina gel 2%, o paramonoclorofenol canforado têm sido associados a este fármaco.

Para se obter sucesso na terapia endodôntica, tão importante quanto o medicamento intracanal utilizado, é o selamento coronário. A recontaminação do canal por microrganismos da cavidade oral deve ser impedida por um adequado selamento, situação que se torna crítica, quando coroas provisórias são utilizadas entre as sessões do tratamento endodôntico, uma vez que sua utilização é importante para manutenção da condição estética do paciente.

ABSTRACT

The aim of the present work was to determine the capacity to block *Enterococcus faecalis* bacterial infiltration in teeth with crowns and temporary pins, using calcium hydroxide ($Ca(OH)_2$) intracanal medication associated with different conduits. Forty-eight extracted canines were used. After instrumentation, the specimens were divided randomly into three groups according to the intracanal medication used: (G1) 12 teeth with $Ca(OH)_2$ + propylene glycol, (G2) 12 teeth with $Ca(OH)_2$ + 2% chlorexidine gel, and (G3) 12 teeth with $Ca(OH)_2$ + camphorated paramonochlorophenol (Calen + PMCC). Crowns and temporary pins were cemented to the specimens in these three groups. The positive control group consisted of six teeth with permanent openings, with no intracanal medication and no crowns or temporary pins, whereas the negative control group consisted of six healthy teeth. The specimens were impermeabilized and, together with the inoculation platform, were sterilized. After having set up on the platform, in such a way as to remain 3mm apically from the root immersed in a BHI environment, the inoculation with *E. faecalis* was carried out. As a result, infiltration could be detected in all three experimental groups and intensified as of the 35^{th} day. In conclusion, the group (teeth with crowns and temporary pins and intracanal dressing) proved inefficient in blocking *E. faecalis* infiltration.

Key Words: bacterial infiltration; calcium hydroxide*;* endodontics; *Enterococcus faecalis;* temporary crown.

REFERÊNCIAS

BARRIESHI, K. M.; WALTON, R. E.; JOHNSON, W. T.; DRAKE, D. R. Coronal leakage of mixed anaerobic bacteria after obturation and post space preparation. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.84, p.310-314, 1997.

BASRANI, B.; GHANEM, A.; TJÄDERHANE, L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. **J. Endod.**, v.30, p.413-417, 2004.

BASRANI, B.; SANTOS, J. M.; TJÄDERHANE, 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.

BAUMGARTNER, J. C.; FALKLER-JR, W. A. Bacterial in the apical 5mm of infected root canals. **J, Endod**., v.17, p.380-383, 1991.

BYSTRÖM, A.; CLAESSON, 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.

BYSTRÖM, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy.**Scand. J. Dent. Res**., v.89, p.321-328, 1981.

CHIVATXARANUKUL, P.; DASHPER, S. G.; MESSER, H. H. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.,** v.41, p.873-882, 2008.

CHONG, B. S.; PITT FORD, T. R. The role of intracanal medication in root canal treatment. **Int. Endod. J.,** v.25, p.97-106, 1992.

DEMARCHI, M. G. A.; SATO, E. F.,L. Leakage of interim post and cores used during laboratory fabrication of custom posts. **J. Endod**., v.28, p.328-329, 2002.

EVANS, M. D.; DAVIES, J. K.; SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **Int. Endod. J.,** v.35, p.221-228, 2002.

FAVA, L. R. G.; SAUNDERS, W. P. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. **Int. Endod. J.**, v.32, 257-282, 1999.

GEORGE, S.; KISHEN, A.; SONG, K. P. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.,** v.31, p.867-872, 2005.

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, 2003.

GOMES, B. P. F. A.; SOUZA, S. F. C.; FERRAZ, C. C. R.; TEIXEIRA, F. B.; ZAIA, A. A.; 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, 2003.

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

KHAYAT, A.; LEE, S. J.; TORABINEJAD, M. Human saliva penetration of coronally unsealed obtured root canals. **J. Endod.,** v.19, p.458-461, 1993.

LAW, A.; MESSER, H. An evidence-based analysis of antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. **J. Endod.,** v.30, p.689-694, 2004.

LOVE, R. M. *Enterococcus faecalis;* a mechanism for its role in endodontic failure. **Int. Endod. J.,** v.34, p.399-405, 2001.

NEELAKANTAN, P.; SANJEEV, K.; SUBBARAO, C. V. Duration-dependent susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide and chlorhexidine gel used as intracanal medicament: an in vitro evaluation. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.,** v.104, p.138-141, 2007.

NERWICH, A.; FIDGOR, D.; MESSER, H. H. pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. **J. Endod.**, v.19, p.302-326, 1993.

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

ØRSTAVIK, D.; KEREKES, K.; 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.

PETERS, L. B.; WESSELINK, P. R.; BUIJS, J. F.; VAN WINKELHOFF, A. J. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. **J. Endod.**, v.27, p.76-81, 2001.

ROBERT, G. H.; FREDERICK, R. L.; THOMAS, B. B.; MACPHERSON, J. C. Apical diffusion of calcium hydroxide in an in vitro model. **J. Endod.**, v.31, p.57-60, 2005.

RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA-JR, J. F.; SANTOS, K. R. N. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. **J. Endod.,** v.30, p.315-320, 2004.

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

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

SIQUEIRA JR, J. F.; RÔÇAS, I. N.; ALVES, F. R. F.; SANTOS, K. R. N. Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: A molecular investigation. **J. Endod.,** v.30, p.638-643, 2004.

SJÖGREN, U.; FIGDOR, D.; PERSON, S.; SUNDQVIST, G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. **Int. Endod. J.,** v.30, p.297-306, 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.

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

SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D.; PERSON, S.; SJÖGREN, U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic tretmente and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.,** v.85, p.86-93, 1998.

TORABINEJAD, M.; HANDYSIDES, R.; KHADEMI, A. A.; BAKLAND, L. K. Clinical implications of the smear layer in endodontics: A review. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.,** v.94, p.658-66, 2002.

TORABINEJAD, M.; UNG, B.; KETTERING, J. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. **J. Endod.**, v.16, p.566-569, 1990.

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

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

TROPE, M.; DELANO, E.O.; ØRSTAVIK, D. Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment. **J. Endod.**, v.25, p.345-50, 1999.

WU, M. K.; DUMMER, P. M. H.; WESSELINK, P. R. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection**. Int. Endod. J.**; v.39, p.343-356, 2006.

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

ARTIGO I

AVALIAÇÃO DA INFILTRAÇÃO BACTERIANA POR *ENTEROCOCCUS FAECALIS* EM DENTES COM COROAS PROVISÓRIAS RETIDAS POR PINOS E MEDICAÇÃO INTRACANAL

RESUMO

Objetivo: determinar a capacidade da coroa provisória em impedir a infiltração bacteriana por *Enterococcus faecalis* em dentes submetidos ao preparo químico mecânico seguido da medicação intracanal de hidróxido de cálcio ($Ca(OH)_2$) associado a diferentes veículos. **Metodologia**: Foram utilizados 48 caninos extraídos, que após instrumentação foram divididos de forma aleatória em três grupos de acordo com o medicamento intracanal utilizado: (G1) 12 dentes com $Ca(OH)_2$ + propilenoglicol; (G2) 12 dentes com $Ca(OH)_2$ + clorexidina gel 2%; (G3) 12 dentes com $Ca(OH)_2$ + paramonoclorofenol canforado (Calen + PMCC). Coroas e pinos provisórios foram cimentados nos espécimes desses três grupos. Como controle positivo, foram utilizados seis dentes que permaneceram abertos, sem medicamento intracanal e sem coroa provisória. Como controle negativo foram utilizados seis dentes hígidos. Os espécimes receberam impermeabilização e, juntamente com a plataforma de inoculação, foram esterilizados. Após montagem em plataforma, de forma a permanecer 3mm apicais da raiz imerso no meio BHI, foi realizada inoculação com *E. faecalis* a cada 3 dias durante o período de 60 dias. **Resultados**: Em todos os três grupos experimentais detectou-se infiltração intensificada a partir do 35º dia. **Conclusão**: A coroa provisória precedida de curativo intracanal a base de $Ca(OH)_2$ foi ineficaz em impedir a infiltração por *E. faecalis.*

Palavras-chave: coroa provisória; endodontia; *Enterococcus faecalis;* hidróxido de cálcio; infiltração bacteriana.

ABSTRACT

The aim of the present work was to determine the capacity to block *Enterococcus faecalis* bacterial infiltration in teeth with crowns and temporary pins, using calcium hydroxide ($Ca(OH)_2$) intracanal medication associated with different conduits. Forty-eight extracted canines were used. After instrumentation, the specimens were divided randomly into three groups according to the intracanal medication used: (G1) 12 teeth with $Ca(OH)_2$ + propylene glycol, (G2) 12 teeth with $Ca(OH)_2$ + 2% chlorexidine gel, and (G3) 12 teeth with $Ca(OH)_2$ + camphorated paramonochlorophenol (Calen + PMCC). Crowns and temporary pins were cemented to the specimens in these three groups. The positive control group consisted of six teeth with permanent openings, with no intracanal medication and no crowns or temporary pins, whereas the negative control group consisted of six healthy teeth. The specimens were impermeabilized and, together with the inoculation platform, were sterilized. After having set up on the platform, in such a way as to remain 3mm apically from the root immersed in a BHI environment, the inoculation with *E. faecalis* was carried out. As a result, infiltration could be detected in all three experimental groups and intensified as of the 35^{th} day. In conclusion, the group (teeth with crowns and temporary pins and intracanal dressing) proved inefficient in blocking *E. faecalis* infiltration.

Key Words: bacterial infiltration; calcium hydroxide; endodontics; *Enterococcus faecalis;* temporary crown.

INTRODUÇÃO

O papel etiológico dos microrganismos na iniciação e perpetuação de doenças pulpares e perirradiculares está bem definido. A reinfecção do canal e conseqüente falha no tratamento podem ocorrer devido ao crescimento de bactérias residuais resistentes aos procedimentos de limpeza e formatação, durante terapia endodôntica ou por invasão bacteriana via infiltração coronal. Microrganismos resistentes, na porção apical do canal radicular, têm sido apontados como causa principal de falha na terapia endodôntica (Kakehashi *et al*. 1965, Byström & Sundqvist 1981, Byström *et al*. 1985, Baumgartner & Falkler 1991, Sjögren *et al.* 1997, Sundkvist *et al*. 1998, Basrani *et al.* 2002, Evans *et al.* 2002).

A espécie bacteriana mais comumente encontrada em falhas na terapia endodôntica é *Enterococcus faecalis*, sendo capaz de sobreviver no canal radicular como um único organismo ou como o principal componente da microbiota. Sua habilidade em formar biofilme nos canais radiculares e invadir túbulos dentinários pode explicar sua persistência nestes ambientes. Vários estudos têm apontado para sua relativa resistência ao hidróxido de cálcio, justificada por sua capacidade em sobreviver a elevados pH (Tronstad *et al*. 1981, Byström *et al.* 1985, Haapasalo & Ørstavik 1987, Ørstavik & Haapasalo 1990, Baumgartner & Falkler 1991, Molander *et al.* 1998, Sundqvist *et al*. 1998, Love 2001, Peters *et al.* 2002, Evans *et al*. 2002, Distel *et al*. 2002, Lin *et al*. 2003, Figdor *et al*. 2003, Siqueira *et al.* 2004, Rôças *et al*. 2004, George *et al*. 2005, Wu *et al*. 2006, Nakajo *et al.* 2006, Chivatxaranukul *et al*. 2008).

O número de bactérias residuais pode ser controlado pela utilização de medicamento intracanal, entre sessões. O hidróxido de cálcio é o medicamento mais comumente utilizado, atuando como barreira física, o que pode prevenir a reinfecção do canal

radicular e interromper o suprimento de nutrientes para as bactérias que nele resistirem (Siqueira & Lopes 1999, Gomes *et al.* 2003a, Ørstavik *et al.* 1991, Chong & Pitt Ford 1992, Trope *et al.* 1999, Law & Messer 2004).

Muitas substâncias têm sido adicionadas ao hidróxido de cálcio a fim de aumentar sua propriedade antibacteriana, como a clorexidina e o paramonoclorofenol canforado (Byström *et al*. 1985, Basrani *et al*. 2002, Sukawat & Srisuwan 2002, Lin *et al.* 2003, Gomes *et al*. 2003a, Evans *et al.* 2003, Lynne *et al.* 2003, Basrani *et al*. 2004, Zerella *et al.* 2005, Gomes *et al*. 2006, Ercan *et al.* 2006).

Durante a atuação do medicamento no interior do canal, restaurações provisórias devem garantir a permanência deste, impedindo a infiltração coronária salivar e bacteriana. O selamento coronário deficiente tem sido apontado por várias pesquisas como um importante fator de falha na terapia endodôntica. O ambiente oral é rico em microrganismos e as restaurações devem prevenir a penetração de saliva, bactérias e seus subprodutos, oriundos da cavidade oral, no sistema de canais radiculares e tecidos perirradiculares (Torabinejad *et al.* 1990, Chong & Pitt Ford 1992, Khayat *et al*. 1993, Ray & Trope 1995, Barrieshi *et al.* 1997, Demarchi & Sato 2002, Rôças *et al*. 2004).

O objetivo deste estudo foi verificar a eficácia do hidróxido de cálcio associado à clorexidina, propilenoglicol ou PMCC, como medicamento intracanal em impedir a infiltração bacteriana coronária por *Enterococcus faecalis* nos canais radiculares, em dentes com coroas provisórias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 48 caninos, sendo a abertura de acesso realizada com broca 1557 e Endo Z. Os dentes foram instrumentados com limas tipo K pela técnica de Oregon. Uma lima K # 10 foi introduzida em cada canal até o seu aparecimento pelo forame apical, sendo o CT determinado 1 mm aquém desse comprimento. A preparação apical foi realizada até a lima # 50 (Maillefer, Ballaigues, Suiça). Durante a instrumentação, utilizou-se copiosa irrigação com 2 ml de solução de hipoclorito de sódio a 5.25%, após o emprego de cada lima. Os canais foram secos com cones de papel absorventes, e confeccionados coroas e pinos provisórios.

Para a realização da coroa provisória, foi utilizado um molde padrão de silicone (Dentsply Indústria Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil) obtido a partir da coroa original de um dente hígido. Com este modelo foi possível manter o mesmo tamanho e volume da resina acrílica, padronizando todas as provisórias. Obtido o molde, os dentes tiveram suas coroas clínicas removidas, com o auxílio de disco de carborundum de forma linear, permanecendo estrutura suficiente de esmalte (3 mm nas proximais) para adaptação da coroa provisória. As margens foram biseladas em esmalte com ponta diamantada 2136 (KG Sorensen Indústria e Comércio Ltda, Barueri, São Paulo, SP, Brasil) de alta rotação em ângulo de 45 graus. Utilizou-se uma broca de Largo (Maillefer, Dentsply, Ballaigues, Suíça) # 3 com cursor em 11 mm de profundidade, ampliando o espaço para confecção dos pinos. Os pinos pré-fabricados (Angelus Indústria de Produtos Odontológicos Ltda, Londrina, PR, Brasil) foram moldados com resina acrílica (Artigos Odontológicos Clássico Ltda, São Paulo, SP, Brasil) no interior da raiz, previamente lubrificada com isolante orgânico (Grupo Cimed, Indústria de medicamentos Ltda, Pouso Alegre, MG, Brasil) e uma lima K # 50 envolvida em algodão, preservando-se os 5 mm apicais dos canais radiculares através de adaptação de um cursor à

lima. Depois da polimerização os excessos da resina acrílica foram removidos com um instrumento hollemback (Dental Duflex Ltda, Juiz de Fora, MG, Brasil). As porções coronárias dos pinos foram cortadas com um alicate para que o pino se encaixasse no molde. Novamente o molde foi lubrificado, preenchido com resina acrílica e então, o pino previamente moldado foi inserido nele para que ocorresse a polimerização. Após o tempo de presa da resina acrílica, foram retirados os excessos com broca tronco-cônica (702) e broca Maxcut adaptada ao micromotor. O polimento das coroas provisórias foi realizado com discos de borracha (Microdont Ltda, São Paulo, SP, Brasil) e suas adaptações avaliadas.

Posteriormente à confecção das restaurações provisórias, os canais foram preenchidos com solução de EDTA a 17%, por 3 min, para remoção da matriz inorgânica da *smear-layer*, e em seguida novamente irrigados com 5 mL de hipoclorito de sódio a 5.25%. Após serem secos com pontas de papel absorvente # 50, foram distribuídos aleatoriamente nos grupos experimentais com 12 amostras para cada, de acordo com os medicamentos intracanal utilizados, e 2 grupos controle com 2 amostras de dente hígido (controle negativo) e 2 de dentes com cavidade pulpar aberta (sem restauração provisória) como controle positivo, totalizando 6 dentes.

Os 5 mm apicais dos canais foram preenchidos com 3 diferentes curativos, de acordo com o grupo experimental: Grupo 1- hidróxido de cálcio P.A. + propilenoglicol (1:1) (Lenza Farmaceutíca, Divisão Odontológica, Belo Horizonte, MG, Brasil); Grupo 2 – hidróxido de cálcio + gluconato de clorexidina gel 2% (1:1) (Lenza Farmaceutica, Divisão Odontológica, Belo Horizonte, MG, Brasil); Grupo 3– Calen + PMCC (SS White Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil). O pH das 3 pastas foi testado (GEHAKA, digital pH metro modelo PG 2000, eletrodo, São Paulo, SP, Brasil) antes da inserção nos canais. Os valores foram: pH 12.61 para a pasta $Ca(OH)_2$ + propilenoglicol; pH 12.60 para a pasta

$Ca(OH)_2$ + gluconato de clorexidina gel 2%; pH 12.59 para Calen + PMCC. A pasta Calen + PMCC foi levada ao interior dos canais utilizando-se uma seringa com êmbolo de rosca (SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e agulha longa (Gengibrás-27G; Ibras CBO Ind. Bras., São Paulo, SP, Brasil) com um cursor de silicone para limitar a penetração da pasta aos 5 mm apicais . As demais pastas foram levadas ao interior dos canais radiculares utilizando-se de limas #50 e em seguida condensadas com o auxílio de condensadores (número 2 e 3) de guta-percha para técnica de Schilder (Odous, Belo Horizonte, MG, Brasil). A visualização do extravasamento da pasta pelo forame apical, juntamente às radiografias periapicais confirmaram o preenchimento dos 5 mm apicais. Todo o processo de inserção das pastas foi realizado com o auxílio de microscópio operatório (DF Vasconcelos, São Paulo, Brasil), objetivando total controle de visualização da pasta nos 5 mm apicais e a sua completa remoção no restante do canal utilizando-se limas envolvidas em algodão. As coroas e pinos provisórios foram cimentados com o cimento Temp-Bond ®NE (Synbron Kerr Corporation, Orange, CA), manipulado e inserido seguindo as instruções do fabricante.

Foi utilizado um sistema composto de duas câmaras confeccionado com frascos de vidro de 10 ml (Wheaton do Brasil S.A.®, São Bernardo do Campo, SP), tampas de borracha (Adnaloy Artefatos de Borracha Ltda.®, São Paulo, SP, Brasil) com 20 mm de diâmetro e tubos tipo Eppendorf de 1.5 ml (Cral, Comércio de Artigos para Laboratório Ltda®, São Paulo, SP, Brasil). As tampas de borracha foram perfuradas no centro, por meio de um perfurador de aço (Indústria e Comércio Graziano, São Paulo, SP, Brasil) com 11 mm de diâmetro. Posteriormente, foram removidos 5 mm da extremidade inferior dos tubos Eppendorf com disco de carborundum montado em mandril e acionado por micromotor em peça de mão reta. As raízes juntamente com as coroas provisórias cimentadas, foram introduzidas na estrutura de Eppendorf e adaptadas até o melhor ajuste do terço cervical. Em

seguida foram realizadas as impermeabilizações das amostras, exceto nos 3 mm apicais da raiz.

A impermeabilização dos espécimes dos grupos 1, 2 e 3 foi realizada com duas camadas de cianoacrilato (Super Bonder, Henkel Loctite Adesivos Ltda.®, Itapevi, Brasil) e uma de esmalte para unhas (Colorama Cremoso, Procosa Produtos de Beleza Ltda.® São Paulo, Brasil). Para garantir uma adequada impermeabilização, a porção tubo-dente foi selada com uma camada de resina epóxica (Durepóxi, Alba Química Indústria e Comércio Ltda.®, Boituva, Brasil). Após esse procedimento, uma nova camada de cianoacrilato foi aplicada sobre a resina epoxy e em toda superfície radicular impermeabilizada. Uma camada adicional de esmalte foi utilizada para garantir o melhor selamento entre tubo-dente e espécimes.

O grupo controle positivo recebeu o mesmo tipo de impermeabilização dos grupos experimentais, enquanto os espécimes do grupo controle negativo tiveram toda sua superfície externa impermeabilizada com as mesmas etapas e selantes dos demais grupos, inclusive os 3 mm apicais.

Após completa secagem, por 24 horas a temperatura ambiente, os aparatos de teste foram adequadamente identificados e submetidos à esterilização em Gás de Óxido de Etileno (Curar Centro de Esterilização Ltda., Belo Horizonte, Brasil).

O meio de cultura Brain Heart Infusion (BHI), caldo (BHI Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), depois de preparado de acordo com as instruções do fabricante e acrescido aos agentes neutralizadores tiossulfato de sódio e Tween 80, ambos na concentração de 1%, foi esterilizado em autoclave. Na capela de fluxo laminar foi feita a montagem do aparato de teste e a distribuição do meio de cultura nos frascos de vidro. Em seguida, adaptou-se a esses

frascos a tampa perfurada, introduzindo-se o conjunto tubo *eppendorf-dente* até a imersão de 3 mm radiculares no meio de cultura (FIG. 1).

FIG.1- Conjunto tubo *eppendorf-dente* e imersão de 3 mm radiculares em meio BHI

Foi utilizado, segundo protocolo preconizado por Estrela (2005), o microrganismo indicador proveniente da *American Type Culture Collection* (ATCC) - *Enterococcus faecalis* (ATCC 4083). A recuperação da linhagem foi realizada a partir de uma cultura de 24 horas de incubação em caldo BHI. O microrganismo, *Enterococcus faecalis* foi semeado em meio sólido após 24 horas e as suspensões preparadas em 5 ml de água destilada, ajustadas à escala de turvação correspondente a escala 1 de McFarland ($3x10^8$ células/ ml). Dessa suspensão microbiana foi retirado 1 ml para o preparo de uma nova suspensão em 5 ml de BHI e alíquotas de 0.1 ml foram inoculadas na parte superior do aparato em condição de aerobiose. Esta inoculação microbiana foi realizada a cada 3 dias, com cultura de 24 horas, durante 60 dias e incubadas, a 37^0 C, em estufa bacteriológica.

Durante todo o período experimental foi verificada a viabilidade do microrganismo indicador, tanto nos meios já inoculados no conjunto plataforma e meio de

cultura como naqueles que seriam inoculados. Para tanto, em cada nova inoculação foi verificado, previamente, se os microrganismos indicadores estavam viáveis, transferindo-se 0.1 ml da nova suspensão bacteriana em um tubo contendo 10 ml de BHI acrescido de Tiossulfato de sódio e Tween 80, ambos a 1%. Da mesma maneira, retirava-se, a alíquota do 0.1 ml do meio presente no interior da parte superior do Eppendorf ao final dos 3 dias, para verificar a manutenção da viabilidade destes microrganismos neste período e evitar resultados falso-negativos. Para testar a viabilidade das bactérias no interior dos Eppendorfs, eram escolhidas aleatoriamente 2 amostras a cada 3 dias.

As leituras dos resultados eram realizadas a cada 24 horas, através da avaliação do índice de turbidade (presença ou ausência de turvação do meio), na região do tubo correspondente ao ápice radicular do dente, indicando presença ou ausência do microrganismo. Os meios considerados positivos para o crescimento bacteriano foram aqueles que apresentaram índice de turbidade superior a 0.5 McFarland ($1.5x\ 10^8$ CFU ml^{-1}). O resultado positivo indicava a infiltração microbiana na interface pino e parede do canal radicular. Foram realizadas amostras microscópicas, utilizando-se o método de Coloração de Gram, para verificar se a contaminação das amostras foi pelo mesmo microrganismo indicador.

RESULTADOS

Foi realizada uma análise estatística denominada Análise de Sobrevivência, onde se comparou o desempenho dos três medicamentos. Para estimar a função de sobrevivência foi utilizado o estimador de Kaplan-Meier. O Gráfico 1 apresenta as curvas de Kaplan-Meier para os três grupos em estudo.

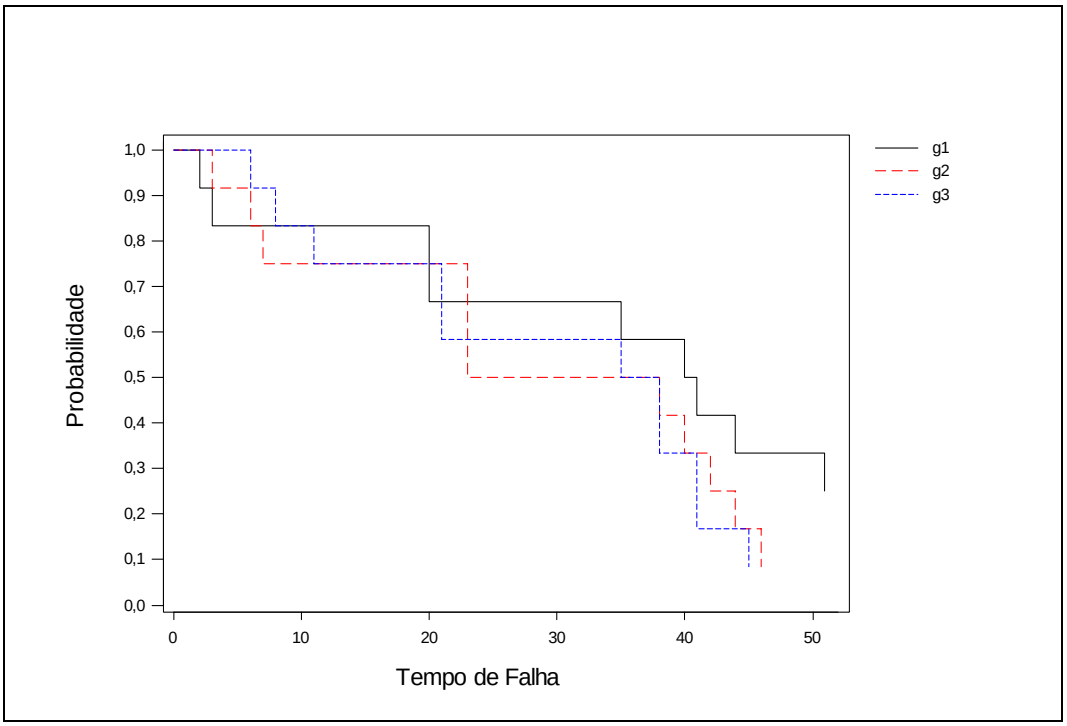

Gráfico 1: Estimativas de Kaplan-Meier para os grupos G1, G2 e G3.

Para comparar as curvas de sobrevivência foi utilizado o Teste de Log-Rank (Tabela 1).

Tabela 1: Teste de Log-Rank

Estatística de teste qui-quadrado	Graus de liberdade	Valor-p
1,4754	2	0,4782

Pela Tabela 1 pode-se concluir que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, pois o valor p = 0,4782 foi maior do que o nível de significância estipulado (5%), levando à não rejeição da hipótese nula de igualdade dos grupos. Para saber, neste estudo, a probabilidade de sobrevivência de 90% e 95% em cada um dos grupos, foi feita uma interpolação e os valores se encontram na Tabela 2.

Tabela 2: Tempo de sobrevivência de 90% e 95%

Grupos	Probabilidade de sobrevivência	
	90%	95%
G1	2,2	1,6
G2	3,6	1,8
G3	6,4	5,2

DISCUSSÃO

Numerosas estratégias e regimes de tratamento têm sido propostos para o tratamento de dentes com infecção persistente. A limpeza químico-mecânica continua essencial na terapia endodôntica, sendo a utilização de medicação antibacteriana intracanal usualmente necessária (Byström *et al*. 1985, Zerella *et al.* 2005). Com relação às propriedades antimicrobianas dos medicamentos intracanal e irrigantes utilizados, a eliminação dos microrganismos pode não ser uniforme devido à grande diferença na vulnerabilidade dos organismos envolvidos nas infecções endodônticas (Gomes *et al*. 2006). Além disso, a rica variação anatômica do SCR permite que bactérias possam permanecer nas ramificações e no interior dos túbulos dentinários, representando um importante reservatório pela qual a infecção ou reinfecção do canal radicular possa ocorrer durante e após o tratamento endodôntico. Estratégias devem ser direcionadas para eliminação dessa infecção, incluindo medicamentos com capacidade de difusão na dentina (Siqueira & Lopes 1999).

Ray & Trope (1995), em estudo clínico concluíram ser a restauração coronária tão ou mais importante para a saúde dos tecidos apicais do que a qualidade técnica do tratamento endodôntico. De forma que a simples colonização bacteriana no seguimento coronal do dente poderá permitir a penetração de subprodutos e endotoxinas bacterianas para os tecidos

perirradiculares, estimulando um processo inflamatório tecidual. De fato, Barrieshi *et al.* (1997) demonstraram que processo de infiltração bacteriana ocorre após perda do selamento coronário. Um importante ponto a ser esclarecido é que produtos bacterianos e endotoxinas conseguem atingir o ápice radicular em tempo inferior ao que necessitam as bactérias (Alves *et al*. 1998). Portanto, tendo-se como princípio estabelecer um ambiente onde o reparo tecidual possa ocorrer e ser mantido, é fundamental que cuidados sejam tomados não apenas durante a terapia endodôntica, mas também no selamento proporcionado pela restauração da coroa (Saunders & Saunders 1994).

Este trabalho reproduz uma situação clínica muito comum, onde a utilização de medicação intracanal se faz necessária em dentes com coroas e pinos provisórios, sendo a manutenção da cadeia asséptica fundamental para o sucesso do tratamento, e a estética de suma importância para o paciente. A habilidade do curativo intracanal em impedir a infiltração bacteriana está intrinsecamente relacionada à qualidade de adaptação da prótese provisória. O tempo é um fator importante na segurança do conjunto prótese e pino provisórios, juntamente ao medicamento intracanal na prevenção da infiltração bacteriana. Dessa forma, levando-se em consideração o tratamento em períodos mais prolongados, o medicamento intracanal deve possuir propriedades antimicrobianas para prevenir contaminação do canal radicular.

Um dos importantes pontos deste trabalho foi a confecção das coroas e pinos provisórios, de forma padronizada e com excelente adaptação, objetivando assegurar o melhor selamento coronário, situação que infelizmente não se observa rotineiramente. A presença de infiltração coronária pode solubilizar o medicamento intracanal tornando-o ineficaz, sendo o selamento coronário fator chave na manutenção da sua atividade antibacteriana (Chong & Pitt Ford 1992, Gomes *et al.* 2006).

Estudos *in vitro* realizados por Fox & Gutteridge (1997) e Demarchi & Sato (2002) demonstraram que dentes restaurados com coroas e pinos provisórios apresentaram quantitativamente a mesma contaminação dos dentes sem restauração. No estudo de Gomes *et al.* (2003b), o selamento coronário retardou a infiltração bacteriana assim como o uso de medicamento intracanal, demonstrando de maneira clara a importância de ambos.

O hidróxido de cálcio é o medicamento mais comumente utilizado como parte da estratégia de desinfecção do SCR. Porém, devido à sua baixa solubilidade, a atividade antibacteriana parece estar restrita às bactérias em contato direto com essa substância (Siqueira & Uzeda 1996). Para a efetiva eliminação de bactérias no interior dos túbulos dentinários, os íons hidroxila devem se difundir pelo tecido em concentração suficiente, excedendo a capacidade tampão da dentina, para que o nível de pH aumente de forma significante. No estudo de Tronstad *et al*. (1981), embora tenha sido comprovado que a alcalinização da dentina ocorra, os níveis de pH atingidos podem não ser suficientes na eliminação de alguns microrganismos mais resistentes, como o *Enterococcus faecalis*, podendo sobreviver mesmo em ambientes com pH 11.5. Dessa forma, quando o hidróxido de cálcio é utilizado, como medicamento intracanal, por um curto período de tempo, os microrganismos são expostos a níveis letais de íons hidroxila somente na proximidade dos orifícios dos túbulos dentinários (Siqueira & Lopes 1999), o que não representa maiores vantagens, uma vez que o preparo químico e mecânico também irão atuar nestas regiões.

Devido à especial microbiota presente nos casos de retratamento, o hidróxido de cálcio pode ser ineficaz como apontam vários estudos (Byström *et al.* 1985, Haapasalo & Ørstavik 1987, Ørstavik & Haapasalo 1990, Distel *et al*. 2002, Evans *et al*. 2002, Lin *et al.* 2003, Siqueira *et al.* 2004). Desta forma, o hidróxido de cálcio não deve ser considerado como um medicamento intracanal universal (Neelakantan *et al*. 2007), por não ser igualmente efetivo contra todas as bactérias encontradas nos canais radiculares. *Enterococcus faecalis* é

um cocos gram-positivo anaeróbio facultativo, relacionado a infecções persistentes nos canais radiculares (Molander *et al.* 1998, Peciuliene *et al.* 2000). *E. faecalis* por não ser indígena da cavidade oral, representa uma infecção exógena que pode se instalar no canal radicular, sobreviver ao tratamento com medicação intracanal, e dessa forma, persistir após a obturação (Sundqvist *et al.* 1998). *E. faecalis* foi escolhido para inoculação neste estudo por ser resistente ao hidróxido de cálcio (Ørstavik & Haapasalo 1990; Byström *et al.* 1985) e está freqüentemente associada com infecções persistentes após terapia endodôntica (Sundqvist *et al*. 1998, Peciuline *et al*. 2000). Como o freqüente isolamento de *enterococci* coloca o rotineiro uso do hidróxido de cálcio como medicamento intracanal em questionamento (Molander *et al*. 1998), terapias alternativas que sejam efetivas contra *E. faecalis* são desejáveis. Dessa forma, o uso deste microrganismo, em particular, para testar modalidades terapêuticas potenciais é apropriado. Adicionalmente, esta é uma bactéria pouco exigente, de fácil crescimento e de fácil colonização (Ørstavik & Haapasalo 1990, Sukawat & Srisuwan 2002). Neste trabalho, *in vitro*, *E. faecalis* foi utilizado em monocultura, embora seja conhecido que, doenças endodônticas sejam causadas primariamente por infecções mistas (Bystrom & Sundqvist 1981). Portanto, o medicamento efetivo contra um simples microrganismo pode não ser necessariamente efetivo contra uma complexa microbiota *in vivo* (Basrani *et al*. 2002).

Demonstrando a importância do período de tempo para se obter maior eficácia do medicamento intracanal na desinfecção do SCR, o estudo clínico de Sjögren *et al*. (1991), demonstrou a ineficiência do hidróxido de cálcio aplicado por 10 min. O período de 7 dias de atuação deste medicamento é considerado eficaz na eliminação de bactérias resistentes ao preparo químico e mecânico dos canais radiculares. Nerwich *et al*. (1993) demonstraram que o tempo necessário para elevar o pH dentinário do canal até superfície radicular externa foi de 2 a 3 semanas. Silveira *et al.* (2001) estudando o efeito do tempo de atuação do medicamento

à base hidróxido de cálcio, verificaram semelhanças nos resultados entre os períodos de 15 e 30 dias para desinfecção do SCR. *In vivo*, a anatomia do SCR, a presença de exsudado e fluído dentinário podem atuar contra a efetividade das medicações. Devido a esses fatores, a duração da colocação do medicamento intracanal entre sessões pode variar dependendo do tipo de medicamento utilizado (Sukawat & Srisuwan 2002). De acordo com Fava & Saunders (1999), o veículo utilizado no medicamento representa um importante papel na ação biológica do hidróxido de cálcio, que é determinada pela velocidade da dissociação iônica em íons cálcio e hidroxila.

Nota-se no presente estudo que, a partir do 35º dia, em todos os três grupos houve um aumento de turvação do conjunto. Isto possibilita crer que o medicamento diminui significativamente a sua eficácia até o período avaliado de 60 dias. Os resultados mostram que, neste estudo, 90% dos dentes não tiveram o meio turvado até 2,2 dias para o G1, até 3,6 dias para o G2 e até 6,4 dias para o G3. Pode ser observado também que, fazendo uma análise um pouco mais rigorosa, 95% dos dentes não tiveram o meio turvado até 1,6 dias para o G1, até 1,8 dias para o G2 e até 5,2 dias para o G3.

Apesar da clorexidina em gel a 2% ter uma atividade antibacteriana contra *E. faecalis* maior que o hidróxido de cálcio, sua propriedade se perde, se usada por longos períodos de tempo (Gomes *et al*. 2003a, Neelakantan *et al.* 2007). Isto pode ser explicado pelo fato da base do gel da clorexidina ser natrosol, que é um veículo aquoso propiciando ao hidróxido de cálcio uma dissociação iônica muito rápida, maior difusão, obrigando a trocas frequentes quando utilizada por períodos de tempo maiores (Fava & Saunders 1999, Gomes *et al*. 2006). O período utilizado de 60 dias neste estudo pode ter afetado negativamente a efetividade da pasta com clorexidina, uma vez que sua eficácia diminui proporcionalmente ao tempo de permanência no canal, sendo constatada uma acentuada diminuição de sua eficácia a partir do 38º dia.

A associação do hidróxido de cálcio ao PMCC provou ser eficaz quando aplicado por um período de 7 dias na eliminação de *E. faecalis* dos túbulos dentinários (Sukawat & Srisuwan 2002). No presente estudo, esta associação demonstrou ser eficaz na primeira semana (90% de eficácia). O estudo, *in vitro,* de Camargo *et al*. (2006) constatou um aumento crescente no pH dentinário e na liberação iônica do 7^{o} ao 14^{o} dia com o uso da pasta Calen + paramonoclofenol canforado. Esse crescente aumento no pH durante os 14 dias está relacionado ao PMCC, que é uma mistura líquida, oriunda da combinação do paramonoclorofenol com a cânfora. O PMCC quando associado ao hidróxido de cálcio, funciona como um veículo oleoso, em função da cânfora ser considerada um óleo essencial e apresentar baixa solubilidade em água, conferindo à pasta de hidróxido de cálcio pouca solubilidade e difusão nos tecidos (Lopes & Siqueira 2004). Anthony *et al*. (1982), comparando o pH de 3 veículos associados ao hidróxido de cálcio, verificaram níveis maiores de pH para PMCC, sendo provavelmente resultante do sal paraclorofenolato de cálcio formado, promovendo uma liberação prolongada e ação estável do hidróxido de cálcio. O presente estudo verificou um aumento de turvação no 35^{o} dia, podendo estar relacionado a perda de sua atividade antimicrobiana residual, como descrito em Soares *et al*. (2007).

O propilenoglicol é um veículo viscoso que, embora solúvel em água, torna a dissociação do hidróxido de cálcio mais lenta (Fava & Saunders 1999).

Frente aos resultados deste estudo *in vitro,* fica claro que o veículo utilizado na composição da pasta de hidróxido de cálcio não teve uma influência expressiva na atividade antimicrobiana. Os veículos utilizados assumem papel coadjuvante, podendo melhorar ou não características importantes, tais como, dissociação, difusão e capacidade de preenchimento da pasta de hidróxido de cálcio. A escolha do veículo vai depender do período necessário e possível para utilização do medicamento intracanal (Fava & Saunders 1999).

Uma limitação encontrada foi devido a escassez de pesquisas relacionada ao tema, não sendo possível a comparação com outros estudos. Assim, nas condições testadas e dentro das limitações deste estudo, pode ser concluído que:

1- As 3 associações de hidróxido de cálcio como medicamento intracanal, foram ineficazes em impedir a penetração do microrganismo testado, observando-se aumento significante da infiltração a partir do 35^{o} dia.

2- O grupo G3 se apresentou mais eficaz nos primeiros 7 dias do experimento.

REFERÊNCIAS

1. Alves J, Walton R, Drake D (1998) Coronal leakage: Endotoxin penetration from mixed bacterial communities through obtured, post-prepared root canals. *J Endod* **24**, 587-91.

2. Anthony DR, Gordon TM, Del Rio CE (1982) The effect of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **54**, 560-5.

3. Barrieshi K M, Walton RE, Johnson WT, Drake DR (1997) Coronal leakage of mixed anaerobic bacteria after obturation and post space preparation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **84**, 310-4

4. Basrani B, Ghanem A, Tjäderhane L (2004) Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. *J Endod* **30**,413-7.

5. Basrani B, Santos JM, Tjäderhane L, Grad H, Gorduysus O, Huang J, Lawrence HP, Friedman S (2002) Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod* **94**, 240-5.

6. Baumgartner JC, Falkler-JR WA (1991) Bacterial in the apical 5mm of infected root canals. *J Endod* **17**, 380-3

7. Byström A, Sundqvist G (1981) Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res* **89**, 321-8.

8. Byström A, Claesson R, Sundqvist G (1985) The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* **1**,170-5

9. Camargo CHR, Bernardineli N, Valera MC, De Carvalho CAT, De Oliveira LD, Menezes MM, Afonso SE, Mancini MNG (2006) Vehicle influence on calcium hydroxide pastes diffusion in human and bovine teeth. *Dent Traumatol* **22**, 302-6.

10. Chivatxaranukul, p.; dashper, s. g.; messer, h. h. dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.,** v.41, p.873-82, 2008.

11. Chong BS, Pitt Ford TR (1992) The role of intracanal medication in root canal treatment. *Int Endod J* **25**, 97-106.

12. Demarchi MGA, Sato EFL (2002) Leakage of interim post and cores used during laboratory fabrication of custom posts. *J Endod* **28**, 328-9.

13. Distel WJ, Hatton JF, Gillespie MJ (2002) Biofilm formation in mediated root canals. *J Endod* **28**, 689-93.

14. Ercan E, Dalli M, Dülgergil ÇT (2006) In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod* **102**, 27-31.

15. Estrela C (2005) *Metodologia Científica*; Ciência. Ensino. Pesquisa. 2ndedn. São Paulo: Artes Médicas.

16. Evans MD, Baumgartner JC, Khemaleelakul SU, XIA T (2003) Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. *J Endod* **29**, 338-9.

17. Evans MD, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D (2002) Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J* **35**, 221-8.

18. Fava LRG, Saunders WP (1999) Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. *Int Endod J* **32**, 257-82.

19. Figdor D, Davies JK, Sundqvist G (2003) Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol* **18**, 234-9.

20. Fox K. Gutteridge DL (1997) An in vitro study of coronal microleakage in root-canal-treated teeth restored by the post and core technique. *Int Endod J* **30**, 361-8.

21. George S, Kishen A, Song KP (2005) The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod* **31**, 867-72.

22. Gomes BPFA, Sato E, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza-Filho FJ (2003) Evaluation of time required for recontamination of coronally sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorhexidine. *Int Endod J* **36**, 604-9.

23. Gomes BPFA, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza-Filho FJ (2003) Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. *Int Endod J* **36**, 267-75.

24. Gomes BPFA,Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ (2006) In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **102**, 544-50.

25. HAAPASALO M, ØRSTAVIK D (1987) In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* **66**, 1375-9.

26. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ (1965) The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **20**, 340-9

27. Khayat A, Lee SJ Torabinejad, M (1993) Human saliva penetration of coronally unsealed obtured root canals. *J Endod* **19**, 458-61.

28. Law A, Messer H (2004) An evidence-based analysis of antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. *J Endod* **30**, 689-94.

29. Lin Y-H, Mickel AK, Chogle S (2003) Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorexidine on *Enterococcus faecalis*. *J Endod* **29**, 565-6.

30. Lopes HP, Siqueira JR JF (2004) *Endodontia*: biologia e técnica. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

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

32. Lynne RE, Liewehr FR, West LA, Patton WR, Buxton TB, Mcpherson JC (2003) In vitro antimicrobial activity of various medication preparations on *E. faecalis* in root canal dentin. *J Endod* **29**, 187-90

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

34. Nakajo K, Komori R, Ishikawa S, Ueno T, Suzuki Y, Iwami Y, Takahashi N (2006) Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen Enterococcus faecalis. *Oral Microbiol Immunol* **21**, 283-8.

35. Neelakantan P, Sanjeev K, Subbarao CV (2007) Duration-dependent susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide and chlorhexidine gel used as intracanal medicament: an in vitro evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **104**, 138-41.

36. Nerwich A, Fidgor D, Messer HH (1993) pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod* **19**, 302-26.

37. Ørstavik D, Haapasalo M (1990) Desinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol* **6**, 142-9.

38. Ørstavik D, Kerekes K, Molven O (1991) Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxide dressing on bacterial infection during treatment of apical periodontitis: a pilot study. *Int Endod* J **24**, 1-7.

39. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M (2000) Isolation of Enterococcus faecalis in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod* **26**, 593-5.

40. Peters LB, Van Winkelhoff AJ, Buijs JF, Wesselink PR (2002) Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with periapical bone lesions. *Int Endod J* **35**, 13-21.

41. Ray HA, Trope M (1995) Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J* **28**, 12-8.

42. Rôças IN, Siqueira Jr JF, Santos KRN (2004) Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod* **30**, 315-20.

43. Saunders WP, Saunders EM (1994) Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol* **10**, 105-8.

44. Siqueira Jr JF, Lopes HP (1999) Mechanism of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J* **32**, 361-9.

45. Siqueira Jr JF, Lopes HP, Uzeda M (1996) Atividade antibacteriana de medicamentos endodônticos sobre bactérias anaeróbias estritas. *Rev APCD* **50**, 326-31.

46. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Alves FRF, Santos KRN (2004) Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: A molecular investigation. *J Endod* **30**, 638-43.

47. SILVEIRA FF, LEONARDO MR, ITO IY, DA SILVA LAB, TANOMARU FILHO M. Avaliação histomicrobiológica após curativo de demora com pastas à base de hidróxido de cálcio por diferentes períodos de tempo. **RBO** 2001;58:224-7.

48. Sjögren U, Figdor D, Person S, Sundqvist G (1997) Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endo J* **30**, 297-306.

49. Sjögren U, Figdor D, Spångberg L, Sundqvist G (1991) The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J* **24**, 119-125.

50. Soares JA, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LAB, Ito IY (2007) Residual antibacterial activity of chlorexidine digluconate and camphorated p-monochlorophenol in calcium hydroxide-based root canal dressings. *Braz Dent J* **18**, 8-15.

51. Sukawat C, Srisuwan T (2002) A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with *Enterococcus faecalis*. *J Endod* **28**, 102-4.

52. Sundqvist G, Figdor D, Person S, Sjögren U (1998) Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic tretmente and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **85**, 86-93.

53. Torabinejad M, Ung B, Kettering J (1990) In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. *J Endod* **16**, 566-9.

54. Tronstad L, Andreassen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I (1981) pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *J Endod* **7**: 17-21.

55. Trope M, Delano EO, Ørstavik D (1999) Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment. *J Endod* **25**, 345-50.

56. Wu MK, Dummer PMH, Wesselink PR (2006) Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. *Int Endod J* **39**, 343-56.

57. Zerella JA, Fouad AF, Spångberg LSW (2005) Effectiveness of calcium hydroxide and chlorhexidine digluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **100**, 756-61.

ARTIGO II

MEDICAÇÃO INTRACANAL E SELAMENTO CORONÁRIO NA TERAPIA ENDODÔNTICA: REVISÃO DE LITERATURA

Intracanal medication and coronary sealing in endodontic therapy: literature review

RESUMO

O objetivo principal da terapia endodôntica é eliminar e manter o SCR (Sistema de Canais Radiculares) livre de infecção. Entre as estratégias empregadas estão a limpeza química e mecânica dos canais radiculares. Devido à grande complexidade anatômica do SCR, microrganismos poderão permanecer viáveis nos túbulos dentinários e ramificações, locais inacessíveis à instrumentação. A espécie bacteriana mais implicada em falhas no tratamento endodôntico tem sido *Enterococcus faecalis*. Esse microrganismo pode apresentar resistência ao hidróxido de cálcio, utilizado como medicamento intracanal. A utilização de medicamentos associados ao hidróxido de cálcio tem sido proposta no intuito de ampliar a sua atuação antibacteriana. Em dentes com próteses provisórias e curativo intracanal, a manutenção da cadeia asséptica entre sessões apresenta-se como um desafio a ser superado. Este artigo descreve sobre a importância do selamento coronário, infiltração bacteriana e utilização de hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado e clorexidina, como medicamento intracanal.

Palavras-chave: Endodontia; hidróxido de cálcio; medicação intracanal; selamento coronário.

ABSTRACT

The core aim of endodontic therapy is to eliminate and maintain the Root Canal System (RCS) free from infection. Chemical and mechanical cleanings of the root canal are two of the main strategies applied in this study. Due to the great anatomic complexity of the RCS, microorganisms may still be feasible in the dentinal tubes and ramifications, locations which are inaccessible by instrumentation. The *Enterococcus faecalis* has been the most common

bacterial species found in failures in endodontic treatment. This microorganism may present resistance to calcium hydroxide, which is used as an intracanal medication. The use of medication associated with calcium hydroxide has been proposed with the aim of expanding its antibacterial action. In teeth with temporary prostheses and intracanal dressings, the maintenance of the aseptic chain between sessions presents a challenge to be surmounted. This article reports on the importance of coronary sealing, bacterial infiltration, and the use of calcium hydroxide associated with camphorated paramonochlorophenol and chlorexidine as intracanal medication.

KEY WORDS: calcium hydroxide; coronary sealing; endodontics; intracanal medication.

INTRODUÇÃO

A infiltração coronária tem sido apontada como um grande problema, podendo levar ao insucesso da terapia endodôntica. A simples colonização de bactérias no seguimento coronal do dente poderá permitir a penetração de subprodutos e endotoxinas bacterianas para os tecidos perirradiculares, estimulando um processo inflamatório[1, 2].

O ambiente oral é rico em microrganismos, dessa forma as restaurações devem prevenir a penetração de saliva, bactérias, subprodutos bacterianos oriundos da cavidade oral, no sistema de canais radiculares e tecidos perirradiculares. Durante o período em que o medicamento intracanal estiver sendo utilizado, um adequado selamento coronário proporcionado por coroas e pinos provisórios é fundamental, evitando ou dificultando a infiltração bacteriana, o que pode comprometer a sua eficácia. O selamento coronal adequado juntamente ao uso de medicamento intracanal irão retardar a infiltração bacteriana coronária[1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10].

A medicação intracanal é uma estratégia direcionada à eliminação de microrganismos resistentes que persistem após o preparo mecânico dos canais radiculares, presentes nos túbulos dentinários e regiões de difícil acesso[4, 11, 12, 13]. Pode prevenir a penetração de bactérias da cavidade oral para o canal radicular sob duas formas: ação antibacteriana e atuando como barreira física. A ação antibacteriana representa uma barreira química contra a infiltração, destruindo bactérias e prevenindo seu ingresso para o interior do canal. Atuando como barreira física, o medicamento irá impedir a infiltração bacteriana e a reinfecção do canal radicular poderá ocorrer quando houver solubilização, permeabilidade do medicamento e percolação da saliva na interface medicamento e parede do canal[11].

O hidróxido de cálcio tem sido o medicamento intracanal mais utilizado. Apresenta pouca eficácia antimicrobiana, quando utilizado como curativo por períodos curtos, devido a capacidade neutralizante da dentina[11, 12, 14, 15, 16, 17, 18]. Vários estudos apontam sua ineficácia em situações de infecções persistentes[19, 20, 21, 22, 23, 24], como as causadas por *Enterococcus faecalis*[15, 25, 26, 27, 28, 29, 30].

Alguns mecanismos apresentados por estes microrganismos estabelecem importantes condições de sobrevivência, mesmo em ambientes difíceis como os apresentados após preparo mecânico e utilização do hidróxido de cálcio nos canais radiculares[27, 28, 31]. Sua capacidade em invadir túbulos dentinários também representa importante função em infecções persistentes[32, 33].

A microbiota de canais radiculares obturados, com presença de lesão apical, difere quantitativa e qualitativamente da encontrada normalmente em dentes com polpas necróticas sem tratamento[34]. Casos de falhas no tratamento endodôntico possuem maior probabilidade de conter *E. faecalis* do que em infecções endodônticas primárias [2, 9, 34, 35, 36,]. *E. faecalis* pode ter acesso ao canal radicular durante o tratamento, entre as consultas, ou após o término do tratamento endodôntico.

Alguns medicamentos são adicionados ao hidróxido de cálcio com o objetivo de ampliar sua atuação antimicrobiana, principalmente em casos de infecções persistentes. Dentre estes, destacam-se a clorexidina[2, 8, 10, 29, 39, 40, 41, 42] e o paramonoclorofenol canforado[11, 44, 45]. Haapasalo & Ørstavik[25] demonstraram a completa ineficácia do hidróxido de cálcio na desinfecção de túbulos dentinários infectados com *E. faecalis*, porém uma completa desinfecção com o uso do PMCC.

Foi feita uma revisão de literatura com o objetivo de avaliar a importância do selamento coronário, discutindo a ação do hidróxido de cálcio associado a diferentes veículos usados como medicação intracanal, correlacionando com infiltração bacteriana.

SELAMENTO CORONÁRIO

A contaminação bacteriana do SCR deve ser uma preocupação constante durante e após o tratamento endodôntico. Durante a terapia endodôntica uma adequada cadeia asséptica deverá ser mantida, incluindo a utilização de isolamento absoluto visando impedir contaminação por microrganismos da cavidade oral.

Ray & Trope[1], em estudo clínico, concluíram ser a restauração coronária tão ou mais importante para a saúde dos tecidos apicais do que a qualidade técnica do tratamento endodôntico. De fato, Barrieshi *et al.*[6] demonstraram que processo de infiltração bacteriana ocorre após perda do selamento coronário. Um importante ponto a ser esclarecido é que produtos bacterianos e endotoxinas conseguem atingir o ápice radicular em tempo inferior ao que necessitam as bactérias[46]. Portanto, tendo-se como princípio estabelecer um ambiente onde o reparo tecidual possa ocorrer e ser mantido, é fundamental que cuidados sejam tomados não apenas durante a terapia endodôntica, mas também no selamento proporcionado na restauração do dente[47].

Torabinejad *et al.*[3], em estudo *in vitro*, verificaram que mais de 50% dos canais obturados, deixados sem selamento coronário, foram completamente contaminados após o 19 dia de exposição bacteriana. Confirmando o papel essencial da integridade do selamento coronário no sucesso da terapia endodôntica, Khayat *et al.*[5] demonstraram contaminação apical por bactérias nos canais previamente obturados, quando expostos coronariamente à saliva, ocorrendo contaminação de todos os canais em 30 dias de exposição. Estudos *in vitro* realizados por Fox & Gutteridge[48] e Demarchi & Sato[7] demonstraram que dentes restaurados com coroas e pinos provisórios apresentaram quantitativamente a mesma contaminação dos dentes sem restauração.

A importância de um adequado selamento coronário abrange todas as etapas da terapia endodôntica, principalmente no período em que se faz necessária a utilização de medicamento intracanal, pois segundo Chong & Pitt Ford[4], a presença de infiltração coronária torna ineficaz o medicamento utilizado. No estudo de Gomes *et al.*[8], o selamento coronário retardou a infiltração bacteriana, assim como o uso de medicamento intracanal, demonstrando de maneira clara a importância de ambos. Gomes *et al.*[10] enfatizaram a importância do contato direto entre o medicamento e os microrganismos infectantes para obtenção do efeito antimicrobiano desejado, o que pode ser perdido com a solubilização do medicamento pela infiltração salivar coronária.

MEDICAMENTO INTRACANAL

A grande complexidade morfológica do SCR representa um desafio ao preparo químico e mecânico. Os 5 mm apicais são considerados críticos para atuação do agente irrigante e instrumentos durante preparo dos canais, pois sendo uma região de maior freqüência de ramificações[49], microrganismos podem aí permanecer mantendo infecções

persistentes[50, 51]. Portanto, a completa eliminação de microrganismos do SCR não pode ser alcançada somente com o preparo químico e mecânico dos canais[52], sendo o sucesso clínico relacionado com a sua ausência[53, 54]. Microrganismos residuais, especialmente na porção apical da raiz, podem se multiplicar[18], chegando ao seu número original em dois a quatro dias, caso o dente permaneça sem medicação intracanal entre as sessões operatórias[55].

A medicação intracanal tem sido indicada com variados propósitos, sendo que entre os principais destacam-se a eliminação de bactérias que tenham permanecido após instrumentação endodôntica e atuar como barreira física para prevenir invasão de microrganismos orais para o interior dos canais radiculares[4].

Em estudo *in vitro*, Tronstad *et al.*[14] verificaram que em 30 dias a alteração no pH dentinário foi de 8 a 11.1 próxima ao canal e entre 7.4 a 9.6, nas proximidades do cemento. O tempo mínimo de permanência da medicação intracanal para atingir os objetivos de desinfecção, variam de sete dias[12, 13, 16], até mesmo períodos mais prolongados de duas a três semanas[17, 45, 56].

RESISTÊNCIA MICROBIANA AO HIDRÓXIDO DE CÁLCIO

Bactérias podem sobreviver após medicação intracanal por várias razões: resistência ao medicamento; estar em locais inacessíveis; o medicamento pode ser neutralizado por componentes teciduais e da célula bacteriana ou seus produtos, perdendo seu efeito antibacteriano; ou o medicamento permanecer por tempo insuficiente no interior do canal[11].

Infecção residual após o tratamento endodôntico é uma probabilidade posterior à utilização de procedimentos usuais de limpeza químico-mecânica dos canais radiculares, sendo que microrganismos podem continuar presentes nas ramificações, nos túbulos

dentinários, até mesmo após o emprego do hidróxido de cálcio, como medicamento intracanal[51]. Os microrganismos que persistem após tratamento são os que sobrevivem à ação de antimicrobianos, ou os que foram introduzidos durante o tratamento[13].

Em um estudo clínico, Waltimo *et al.*[21] verificaram a ineficácia do hidróxido de cálcio na desinfecção do SCR e no reparo de lesões periapicais. O hidróxido de cálcio pode limitar, mas não prevenir totalmente o crescimento de bactérias no interior do canal[20, 58].

ENTEROCOCCUS FAECALIS

Segundo Rôças *et al.*[9], a alta prevalência de *Enterococcus faecalis* em infecções persistentes, relacionadas com falhas na terapia endodôntica, pode estar relacionada a contaminações durante o tratamento, período entre sessões ou após conclusão da terapia. *E. faecalis* não é indígena da cavidade oral, indicando ser uma infecção exógena que pode se instalar no canal radicular, sobreviver ao tratamento com medicação intracanal e, dessa forma, persistir após a obturação do SCR[36].

A alta resistência do *Enterococcus faecalis* ao efeito antibacteriano do hidróxido de cálcio pode explicar o motivo desta substância não eliminar, de maneira eficiente, estes microrganismos dos canais radiculares[13, 19, 54,] e túbulos dentinários[25].

Segundo Stuart *et al.*,[2] alguns fatores de sobrevivência e virulência apresentados pelo *E. faecalis* são: resistência a prolongados períodos de privação nutricional; adesão à dentina e capacidade de invadir túbulos dentinários; alterar respostas do hospedeiro; suprimir a ação dos linfócitos; possuir enzimas líticas, citolizinas, substâncias de agregação, ferormônios e ácidos lipoteicóicos; utilizar soro como fonte nutricional; resistir a medicamentos intracanais, como hidróxido de cálcio, mantendo sua homeostase de pH e pela propriedade da dentina em diminuir o efeito do hidróxido de cálcio (efeito tampão); competir

com outras células e formar biofilme. A habilidade em invadir túbulos dentinários, mantendo-se viáveis, aderir ao colágeno, mesmo na presença de soro humano, parece ser um dos importantes fatores de virulência apresentados por estes microrganismos na persistência de infecções endodônticas[32]. Sua sobrevivência ao elevado pH do hidróxido de cálcio está relacionada à uma funcional bomba de prótons na membrana, mantendo seu pH intracelular e protegendo a membrana celular aos álcalis; e capacidade na formação de biofilmes[27, 28, 31]. A habilidade dos *E. faecalis* em desenvolver biofilme está presente em condições de anaerobiose, aerobiose, em meio rico e pobre de nutrientes[33]. Em biofilme, essas bactérias estão relativamente protegidas e mais resistentes a tratamentos com antimicrobianos[13].

CLOREXIDINA

A maior vantagem da clorexidina está na sua substancialidade, que permite um efeito antimicrobiano residual prolongado nos tecidos. Outra vantagem é que não produz resistência microbiana. Estas características têm suscitado grande interesse na endodontia pela clorexidina[23], principalmente por ser eficaz na eliminação de *E. faecalis*[29]. Basrani *et al.*[39] verificaram que a utilização da clorexidina a 2% como curativo intracanal, por uma semana, proporcionou atividade residual contra *E. faecalis*. A utilização de clorexidina em gel a 2%, isolada ou combinada com o hidróxido de cálcio, foi considerada um dos importantes passos na eliminação e prevenção de infecções por *E. faecalis*[2, 59].

Na forma de gel e na concentração de 2% foi considerada mais efetiva contra *E. faecalis* que o hidróxido de cálcio no estudo de Gomes *et al.*[38]. A clorexidina em gel a 2% também foi apontada por Ercan *et al.*[43] efetiva na eliminação tanto de *E. faecalis* quanto de *C. albicans* presentes no SCR.

A combinação do hidróxido de cálcio com clorexidina em variadas concentrações tem sido uma estratégia utilizada no combate às infecções persistentes. Em teste de difusão em agar, Lin *et al.*[29] verificaram um melhor efeito antimicrobiano contra *E. faecalis* com a associação dos dois medicamentos (clorexidina a 0.12% e hidróxido de cálcio) quando comparada ao hidróxido de cálcio sem associação. Quando o hidróxido de cálcio é associado a clorexidina a 2%, a eficácia antimicrobiana da mistura, no combate a infecção dos túbulos dentinários por *E. faecalis*, é maior que com o hidróxido de cálcio puro[40]. Também foi apontado por Gomes *et al.*[10] que a combinação do hidróxido de cálcio com gluconato de clorexidina em gel a 2% se mostrou eficaz na completa eliminação de *E. faecalis, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Porphyromonas endodontalis, Porphyromonas gingivalis e Prevotella intermédia*.

Além da ampliação da capacidade antibacteriana, a associação da clorexidina gel, em diferentes concentrações, com o hidróxido de cálcio apresenta propriedades físico-químicas (radiopacidade, pH, tempo de trabalho, ângulo de contato, viscosidade) satisfatórias para utilização como medicamento intracanal[41]. Porém, Schäfer & Bössmann[59], investigando *in vitro* a eficácia do gluconato de clorexidina a 2% e hidróxido de cálcio, separadamente e combinados, como medicamento intracanal contra *E. faecalis*, não verificaram aumento na eficiência antibacteriana dessa associação. Zerella *et al.*[42] não verificaram diferença entre a mistura aquosa de clorexidina 2% e $Ca(OH)_2$ e a mistura aquosa de $Ca(OH)_2$ na desinfecção do canal radicular, de dentes com insucesso na terapia endodôntica, durante retratamento, mostrando-se ambas as misturas eficazes.

PARAMONOCLOROFENOL CANFORADO

O paramonoclorofenol canforado, derivado fenólico, introduzido por Walkhoff, em 1929, tem sido amplamente utilizado na endodontia por apresentar elevada atividade antibacteriana contra bactérias anaeróbias estritas[60].

Além de ampliar o raio de atuação e o espectro de atuação, a associação do PMCC ao hidróxido de cálcio possui um maior efeito na ação antibacteriana[11], sendo eficaz na eliminação de bactérias anaeróbias estritas[61] e facultativas presentes no interior dos túbulos dentinários[44]. Concordando com estes estudos, Vianna *et al*.[62] observaram a eficácia da associação hidróxido de cálcio e PMCC na eliminação de espécies microbianas anaeróbias gram-negativas e as associadas a falhas na terapia endodôntica, tais como *E. faecalis* e *C. albicans*.

A utilização do Calen e PMCC por um período de 14 dias, representa a melhor opção de curativo intracanal em casos de infecções pulpares[45, 56]. Sendo a dissociação iônica do hidróxido de cálcio e liberação de íons hidroxila para os tecidos fatores primordiais na ação antibacteriana, o tempo de permanência do medicamento no interior dos canais é importante, uma vez que esses íons possam ser neutralizados pelo efeito tampão da dentina[17]. Dentro desta filosofia, Silveira *et al*.[57] recomendam um período de 30 dias para permanência do Calen e PMCC no interior dos canais,

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseando-se na revisão de literatura realizada, contatou-se que durante e após o tratamento endodôntico a eliminação e manutenção do SCR livre de microrganismos

constitui-se um grande desafio. Medicação intracanal e eficiente selamento coronário, entre sessões e ao término do tratamento, são fundamentais para que se alcance o almejado sucesso.

REFERÊNCIAS

1. Ray HA, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. Int Endod J 1995; 28:12-8.

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

3. Torabinejad M, Ung B, Kettering J. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. J Endod 1990; 16:566-9.

4. Chong BS, Pitt Ford TR. The role of intracanal medication in root canal treatment. Int Endod J 1992; 25:97-106.

5. Khayat A, Lee SJ, Torabinejad, M. Human saliva penetration of coronally unsealed obtured root canals. J Endod 1993; 19:458-61.

6. Barrieshi K M, Walton RE, Johnson WT, Drake DR. Coronal leakage of mixed anaerobic bacteria after obturation and post space preparation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1997; 84:310-4.

7. Demarchi MGA, Sato EFL. Leakage of interim post and cores used during laboratory fabrication of custom posts. J Endod 2002; 28:328-9.

8. Gomes BPFA, Sato E, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza- Filho FJ. Evaluation of time required for recontamination of coronally sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorhexidine. Int Endod J 2003; 36:604-9.

9. Rôças IN, Siqueira Jr JF, Santos, KRN. Association of Enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. J Endod 2004; 30:315-20.

10. Gomes BPFA,Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza- Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, and Endod 2006; 102:544-50.

11. Siqueira Jr JF, Lopes HP. Mechanism of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. Int Endod J 1999; 32:361-9.

12. Law A, Messer H. An evidence-based analysis of antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. J Endod 2004; 30:689-94.

13. Figdor D, Sundqvist G. A big role for the very small-understanding the endodontic microbial flora. Aust Dent J 2007; 52:38-51.

14. Tronstad L, Andreassen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. J Endod 1981; 7:17-21.

15. Byström A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. Endod Dent Traumatol 1985; 1:170-5.

16. Sjögren U, Figdor D, Spångberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. Int Endod J 1991; 24:119-25.

17. Nerwich A, Fidgor D, Messer HH. pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. J Endod 1993; 19:302-26.

18. Trope M, Delano EO, Ørstavik D. Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment. J Endod 1999; 25: 345-50.

19. Waltimo T, Sirén EK, Ørstavik D, Haapasalo MPP. Susceptibility of oral Candida species to calcium hydroxide in vitro. Int Endod J 1999; 32:94-8.

20. Peters LB, Van Winkelhoff AJ, Buijs JF, Wesselink PR. Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with periapical bone lesions. Int Endod J 2002; 35:13-21.

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

22. Sathorn C, Parashos P, Messer H. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide intracanal dressing: a systematic review and meta-analysis. Int Endod J 2007; 40:2-10.

23. Neelakantan P, Sanjeev K, Subbarao CV. Duration-dependentsusceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide and chlorhexidine gel used as intracanal medicament: an in vitro evaluation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007; 104:138-41.

24. Siqueira JR JF, Guimarães-Pinto T, Rôças IN. Effects of chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite and intracanal medication with calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. J Endod 2007; 33:800-5.

25. Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. J Dent Res 1987; 66:1375-9.

26. Ørstavik D, Haapasalo M. Desinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. Endod Dent Traumatol 1990; 6:142-9.

27. Distel WJ, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in mediated root canals. J Endod 2002; 28:689-93.

28. Evans MD, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of Enterococcus faecalis to calcium hydroxide. Int Endod J 2002; 35:221-8.

29. Lin Y-H, Mickel AK, Chogle S. Effectiveness of selected materials against Enterococcus faecalis: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorexidine on Enterococcus faecalis. J Endod 2003; 29:565-6.

30. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Alves FRF, Santos KRN. Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: A molecular investigation. J Endod 2004; 30:638-43.

31. Nakajo K, Komori R, Ishikawa S, Ueno T, Suzuki Y, Iwami Y *et al*. Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen Enterococcus faecalis. Oral Microbiol Immunol 2006; 21:283-8.

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

33. George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes onmonospecies biofilm formation on root canal wall by Enterococcus faecalis. J Endod 2005; 31:867-72.

34. Gomes BPFA, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa ELR, Ferraz CCR, Zaia AA *et al*. Microbiological examination of infected dental root canals. Oral Microbiol Immunol 2004; 19:71-6.

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

36. Sundqvist G, Figdor D, Person S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998; 85:86-93.

37. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of Enterococcus faecalis in previously root-filled canals in a Lithuanian population. J Endod 2000; 26:593-5.

38. Gomes BPFA, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against Enterococcus faecalis in bovine root dentine in vitro. Int Endod J 2003; 36:267-75.

39. Basrani B, Santos JM, Tjäderhane L, Grad H, Gorduysus O, Huang J *et al*. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. Oral Surg, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod 2002; 94:240-5.

40. Evans MD, Baumgartner JC, Khemaleelakul S-U, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. J Endod 2003; 29:338-9.

41. Basrani B, Ghanem A, Tjäderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. J Endod 2004; 30:413-7.

42. Zerella JA, Fouad AF, Spångberg LSW. Effectiveness of calcium hydroxide and chlorhexidine digluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod 2005; 100:756-61.

43. Ercan E, Dalli M, Dülgergil ÇT. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against Enterococcus faecalis and Candida albicans. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod 2006; 102:27-31.

44. Sukawat C, Srisuwan T. A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with Enterococcus faecalis. J Endod 2002; 28:102-4.

45. Camargo CHR, Bernardineli N, Valera MC, De Carvalho CAT, De Oliveira LD, Menezes MM *et al*. Vehicle influence on calcium hydroxide pastes diffusion in human and bovine teeth. Dent Traumatol 2006; 22:302-6.

46. Alves J, Walton R, Drake D. Coronal leakage: Endotoxin penetration from mixed bacterial communities through obtured, post-prepared root canals. J Endod 1998; 24:587-91.

47. Saunders WP, Saunders EM. Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. Endod Dent Traumatol 1994; 10:105-8.

48. Fox K, Gutteridge DL. An in vitro study of coronal microleakage in root-canal-treated teeth restored by the post and core technique. Int Endod J 1997; 30:361-8.

49. De Deus QD. Frequency, location, and direction of the lateral, secondary, and accessory canals. J Endod 1975; 1:361-6.

50. Baumgartner JC, Falkler Jr WA. Bacterial in the apical 5mm of infected root canals. J Endod 1991; 17:380-3.

51. Wu MK, Dummer PMH, Wesselink PR. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. Int Endod J 2006; 39:343-56.

52. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scand J Dent Res 1981; 89:321-8.

53. Sjögren U, Figdor D, Person S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. Int Endo J 1997; 30:297-306.

54. Byström A, Happonen R-P, Sjögren U, Sundqvist G. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. Endod Dent Traumatol 1987; 3:58-63.

55. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: A review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002; 94:658-66.

56. Camões ICG, Salles MR, Chevitarese O, Gomes GC. Influence on pH of vehicle containing glycerin used with calcium hydroxide. Dent Traumatol 2003; 19:132-8.

57. Silveira FF, Leonardo MR, Ito IY, Da Silva LAB, Tanomaru Filho M. Avaliação histomicrobiológica após curativo de demora com pastas à base de hidróxido de cálcio por diferentes períodos de tempo. RBO 2001; 58:224-7..

58. Tang G, Samaranayake LP, Yip H-K. Molecular evaluation of residual endodontic microorganisms after instrumentation, irrigation and medication with either calcium hydroxide or septomixine. Oral Dis 2004; 10:389-97.

59. Schäfer E, Bössmann K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against Enterococcus faecalis. J Endod 2005; 31:53-6.

60. Siqueira Jr JF, Lopes HP, Uzeda M. Atividade antibacteriana de medicamentos endodônticos sobre bactérias anaeróbias estritas. Rev APCD 1996; 50:326-31.

61. Siqueira Jr JF, Uzeda M. Desinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. J Endod 1996; 22:674-6.

62. Vianna ME, Gomes BPFA, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza- Filho FJ. In vitro evaluation of the susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide combined with different vehicles. Braz Dent J 2005; 16:175-80.