



**FAPAC - FACULDADE PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS
ITPAC - INSTITUTO TOCANTINENSE
PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS PORTO LTDA.**

THATIANY DE AZEVEDO CARDOSO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE MATERIAIS
ENDODÔNTICOS AO ENTEROCOCCUS FAECALIS *NEWP 0012***

**PORTO NACIONAL – TO
2017**

THATIANY DE AZEVEDO CARDOSO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE MATERIAIS
ENDODÔNTICOS AO ENTEROCOCCUS FAECALIS *NEWP 0012***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de odontologia do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos – FAPAC/ITPAC PORTO NACIONAL, como requisito parcial para obtenção do Grau de Bacharel em Odontologia.

Orientador: MSC. Eduardo Fernandes Marques. Coorientador: MSC. Karina Scolari Gosch.

**PORTO NACIONAL-TO
2017**

THATIANY DE AZEVEDO CARDOSO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE MATERIAIS ENDODÔNTICOS
AO ENTEROCOCCUS FAECALIS *NEWP0012***

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Curso de Odontologia do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos Porto Ltda. como requisito para obtenção do Grau de Bacharel em Odontologia, junto à Faculdade de Odontologia.

Artigo apresentado e defendido em ____/____/____ pela banca examinadora, constituída pelos professores

Prof.: MSC. Eduardo Fernandes Marques.
Int. Toc. Presidente Antônio Carlos Porto - Orientador

Prof.: Alcides Gomes de Oliveira
Int. Toc. Presidente Antônio Carlos Porto – Membro

Profa.: Natércia Rezende da Silva
Int. Toc. Presidente Antônio Carlos Porto – Membro

PORTO NACIONAL - TO

2017

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE MATERIAIS ENDODÔNTICOS AO ENTEROCOCCUS FAECALIS *NEWP0012*

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ENDODONTICAL MATERIALS TO ENTEROCOCCUS FAECALIS *NEWP0012*

Thatiany de Azevedo Cardoso¹
Eduardo Fernandes Marques²
Karina Scolari Gosch³

¹ Acadêmica do Curso de Odontologia da ITPAC-PORTO. Email: thatiazevedocardoso@gmail.com

² Professor do Curso de Odontologia do ITPAC-PORTO. Email: edufmarx@ig.com.br

³ Professor do Curso de Odontologia do ITPAC-PORTO. Email:

RESUMO

INTRODUÇÃO: A eliminação dos microrganismos na sua totalidade, durante a terapia endodôntica, apesar de desejada, é difícil de ser alcançada. Mesmo após a obturação do canal, microrganismos são capazes de permanecer no interior da massa dentinária e na região periapical. **METODOLOGIA:** Teste de sensibilidade antimicrobiana in vitro - antibiograma (Método de difusão com discos de Bawer e Kirby). Os materiais endodônticos testados foram: Sealer26, Endofill, AH Plus, MTA Filapex, pasta de hidróxido de cálcio associado a clorexidina, ionômero de vidro MaxxionR, MTA e MTA HP. Após a manipulação desses materiais, foram impregnados em discos de papel absorvente de 5 mm de diâmetro e distribuídos espaçadamente sobre as placas contendo o microrganismo. Os dados experimentais foram obtidos por meio da mensuração do halo de inibição nos períodos de 24h, 72h, 7, 15 e 21 dias. **RESULTADOS:** De posse dos resultados, foi possível verificar que a pasta hidróxido de cálcio associado a clorexidina apresentou atividade antimicrobiana superior ao *Enterococcus Faecalis NEWP 0012*. **DISCUSSÃO:** Segundo Vianna (2004), a clorexidina gel a 2% apresentou maior atividade antimicrobiana. A associação do hidróxido de cálcio com a clorexidina gel a 2% diminuiu a atividade antimicrobiana da clorexidina, no entanto, potencializou a do hidróxido de cálcio. **CONCLUSÃO:** Conclui-se que a pasta hidróxido de cálcio associado a clorexidina possui atividade antimicrobiana satisfatória contra *Enterococcus Faecalis NEWP 0012* no período de 24h a 21 dias.

Palavras-Chave: Odontologia, Endodontia, Hidróxido de cálcio.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The elimination of microorganisms in their entirety during endodontic therapy, although desired, is difficult to achieve. Even after canal filling, microorganisms are able to remain inside the dentinal mass and in the periapical region. **METHODOLOGY:** In vitro antimicrobial sensitivity test - antibiogram (Bawer and Kirby disc diffusion method). The endodontic materials tested were: Sealer26, Endofill, AH Plus, Filapex MTA, chlorhexidine associated calcium hydroxide paste, Maxxion® glass ionomer, MTA and HP MTA. After manipulation of these materials, they were impregnated into 5 mm diameter absorbent paper disks and distributed spaced over the microorganism containing plates. The experimental data were obtained by measuring the inhibition halo in the 24h, 72h, 7, 15 and 21 days. **RESULTS:** Based on the results, it was possible to verify that the calcium

hydroxide paste associated with chlorhexidine presented antimicrobial activity superior to *Enterococcus Faecalis NEWP 0012*. **DISCUSSION:** According to Vianna (2004), chlorhexidine gel at 2% presented higher antimicrobial activity. The association of calcium hydroxide with chlorhexidine gel at 2% decreased the antimicrobial activity of chlorhexidine, however, it potentiated that of calcium hydroxide. **CONCLUSION:** It is concluded that calcium hydroxide paste associated to chlorhexidine has satisfactory antimicrobial activity against *Enterococcus Faecalis NEWP 0012* in the period from 24h to 21 days.

Keywords: Dentistry, Endodontics, Calcium hydroxide.

INTRODUÇÃO

A causa mais comum do comprometimento pulpar é a infecção por microrganismos devido à cárie dental. Mesmo a necrose pulpar que ocorre por razões assépticas, cedo ou tarde, acaba sendo infectada. O tecido pulpar necrótico é muito facilmente infectado porque as células e as moléculas do sistema imune do hospedeiro não funcionam em condições teciduais necróticas e as células e moléculas do periodonto apical não conseguem atingir a zona necrótica radicular interna (SIQUEIRA, 2002).

Muitos experimentos mostram que a polpa dental pode se recuperar de uma inflamação aguda, isso é diretamente dependente da quantidade de microrganismos que estarão invadindo a polpa. Em ratos convencionais e *germ-free* alterações pulpares após exposição ao meio bucal são variáveis. Nos *germ-free* há formação de pontes de dentina e ausência de inflamação, apesar de apresentarem necrose na superfície da área exposta. Algumas vezes ocorre necrose na polpa próxima à exposição ao meio bucal e isto é considerado como causado pelo acúmulo ou impactação de alimentos. Nos ratos convencionais, após dois dias há presença de um infiltrado de neutrófilos na camada superficial e início de necrose. Após sete dias a necrose pulpar é mais extensa, com inflamação perirradicular (PATERSON & WATTS, 1987).

A microbiota infectante tem a capacidade de se organizar em biofilme, assim modificando as próprias vias metabólicas de forma a sobreviver a períodos de escassez de nutrientes ou condições menos impróprias ao desenvolvimento. Essa associação em biofilme faz com que esses microrganismos sintetizem e excretem, no transcorrer dos processos metabólicos, substâncias com ação antigênica as quais desencadeiam a inflamação no hospedeiro, a qual se traduz ora em manifestações

clínicas crônicas, ora, em agudas. A organização dos microrganismos em biofilme também oferece uma forma de proteção destes contra agressões e, desta forma, a eliminação de microrganismos organizados em biofilme constitui um objetivo bem mais complexo (CLEGG *et al.*, 2006; TYLER *et al.*, 2006).

Uma etapa fundamental no tratamento endodôntico é a desinfecção do sistema de canais radiculares. Esta etapa se realiza pelo emprego de instrumentos de corte que alargam o canal radicular visando, com a utilização de uma solução irrigadora auxiliar, a remoção dos microrganismos que colonizaram o canal radicular. Como os instrumentos frequentemente não são capazes de cortar todas as paredes do canal radicular, as áreas não tocadas podem permanecer colonizadas, principalmente se há a presença de biofilme.

Neste contexto a solução irrigadora auxiliar assume um papel fundamental de agir nestes locais onde o instrumento endodôntico não é capaz de alcançar. Portanto, esta etapa do tratamento endodôntico é definida como preparo químico-mecânico, pois demanda o emprego de instrumentos com ação mecânica (corte) associados ao emprego de uma solução irrigadora com ação antimicrobiana eficaz (LOPES & SIQUEIRA, 2010).

Várias substâncias químicas têm sido propostas com o intuito de prover uma solução irrigadora eficaz, mas ainda não se desenvolveu uma substância que reúna todas as qualidades desejáveis. Dentre as várias características desejáveis para uma solução irrigadora ideal, sua eficácia antimicrobiana contra biofilme bacteriano parece constituir um ponto fundamental.

No auxílio ao combate aos microrganismos às medicações intracanaís, cimentos endodônticos e biomateriais podem ser utilizados (GUASTALDI & APARECIDA, 2010).

Observa-se que as capacidades antimicrobianas do hidróxido de cálcio e do digluconato de clorexidina são complementares, assim como as demais propriedades (as virtudes de um complementam as deficiências do outro). Por esse motivo, a associação dessas duas substâncias na manipulação da medicação intracanal de uso entre sessões é instigadora e parece plausível que um efeito antimicrobiano aditivo ou sinérgico possa resultar dessa associação (ERCAN *et al.*, 2004). De fato, a combinação do hidróxido de cálcio com o digluconato de clorexidina na manipulação de medicações intracanaís de uso entre sessões vindo sendo, desde há pouco, amplamente analisada e defendida, principalmente, em casos de periodontites apicais

persistentes associadas a necroses pulpares ou a obturações endodônticas fracassadas, mesmo com a limitada disponibilidade de informações a respeito dessa associação (ERCAN et al., 2007). Segundo Zamany et al. (2003), a combinação do hidróxido de cálcio com a clorexidina a 2,0% é, pelo menos, tão eficaz quanto o hidróxido de cálcio veiculado em água deionizada estéril com relação à desinfecção ("in vivo") da dentina do canal radicular de dentes com obturação endodôntica fracassada. Os autores relataram que, de fato, a combinação dos dois princípios ativos apresentou melhores resultados, no entanto, a amostra reduzida levou à diferença estatística não-significante entre os dois grupos.

Com o advento destes materiais, este estudo visa avaliar a atividade antimicrobiana de materiais de uso endodôntico pelos testes de difusão em ágar e por contato direto.

DESENVOLVIMENTO

Microrganismos Bacterianos

Foram utilizadas cepas bacterianas de referência, usadas como padrão para controle de qualidade em laboratórios de Microbiologia e testes de suscetibilidade a antimicrobianos, comercializados pela NewProv. Cada microrganismo encontrava-se estabilizado em discos liofilizados numa concentração acima de 100.000 UFC/mL. Foi utilizado o *Enterococcus faecalis* NEWP 0012.

Os discos contendo os microrganismos foram revitalizados da seguinte forma:

- Com uma pinça flambada e resfriada, os discos foram removidos assepticamente dos seus frascos de origem e colocados em 3 mL de caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion).
- Os tubos foram identificados e incubados à $35^{\circ} \pm 2^{\circ}$ até turvação visível (2 – 3 horas).
- Após, com auxílio de uma alça calibrada de 100 microlítros, foram inoculados os microrganismos em placa de meio não seletivo (Agar sangue) pela técnica de esgotamento e novamente foram incubados à $35^{\circ} \pm 2^{\circ}$ por 24 horas.

Materiais de uso endodôntico

Foram utilizados 8 diferentes tipos de materiais de uso endodôntico adquiridos comercialmente sob a formulação de gel ou solução ou liofilizado: G1 - MTA Angelus® branco, G2 - MTA Angelus® HP, G3 - cimento MTA Fillapex Angelus®, G4 - cimento AH plus®, G5 - Sealer26®, G6 - Endofill®, G7 - ionômero de vidro restaurador MaxxionR®, - G8 - clorexidina gel 2% e hidróxido de sódio (farmácia formula & ação SP- Brasil). A manipulação do MTA Angelus® branco, MTA Angelus® HP, cimento MTA Filapex Angelus®, AH plus®, Sealer26®, Endofill®, e MaxxionR® foram realizados conforme as instruções do fabricante. A manipulação da pasta, clorexidina gel 2% e hidróxido de sódio foram realizados na proporção 1/1. Logo após a manipulação destes materiais, eles foram impregnados em discos de papel absorventes (Figura 01).



Figura 1

Tabela 1: Medindo halo de inibição

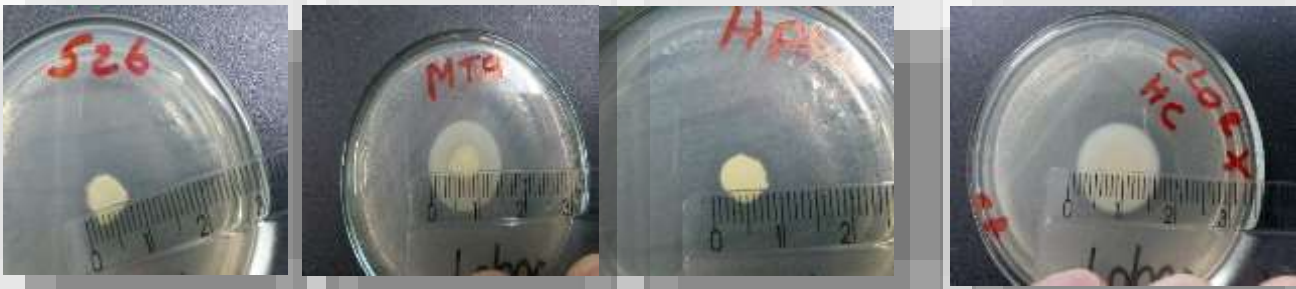


Tabela 1: Medindo halo de inibição



Teste de sensibilidade antimicrobiana in vitro - antibiograma (Método de difusão com discos de Bawer e Kirby).

Preparação de placas e meios de cultura: O meio de Ágar Mueller-Hinton (MH) deve ser preparado previamente fundido, esterilizado e resfriado a 45-50°C. Em seguida, deve ser derramada em placa de petri de 150mm de diâmetro até atingir uma espessura de aproximadamente 4mm.

Preparação do inoculo: As culturas puras de bactérias (NEWPROV) foram cultivadas em caldo nutritivo a 37°C por aproximadamente 12 horas após a

revitalização, tempo suficiente para que a suspensão bacteriana apresente turbidez moderada. A densidade do inóculo a partir de então, foi controlada por diluição com soro fisiológico para se obter uma densidade de turbidez equivalente aquela obtida pela adição de 0,5mL de solução de $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,048M) em 99,5mL de H_2SO_4 0,36N – Escala de McFarland.

Disco de materiais de uso endodôntico

A sensibilidade das diferentes cepas bacterianas frente aos antibióticos foi realizada utilizando o sistema POLISENSIDISC DME 15, onde todos os antibióticos em suas concentrações específicas estão impregnados em papel absorvente de 5 mm de diâmetro. A avaliação da sensibilidade frente aos materiais de uso endodônticos foi feito de maneira similar.

Inoculação das placas

Swabs de algodão foram mergulhados na suspensão bacteriana e o excesso foi removido pressionando o algodão contra a parede do tubo. A suspensão bacteriana foi semeada de maneira uniforme sobre a superfície estéril do Agar MH e os discos de antibióticos ou de materiais de uso endodôntico serão distribuídos espaçadamente sobre o inóculo.

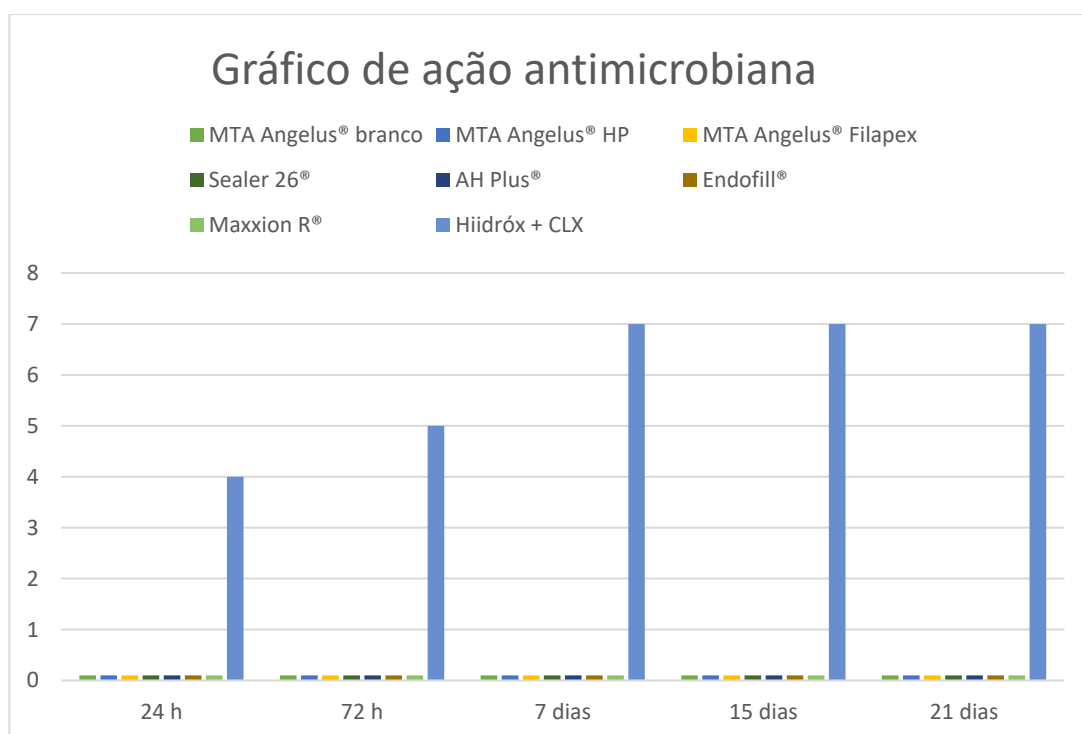
Incubação

As placas de antibiograma foram incubadas sob condições aeróbicas, numa temperatura constante na faixa de 35-37°C, por 24 horas e/ou 7 dias.

RESULTADOS

Os resultados obtidos sobre a atividade antimicrobiana dos materiais de uso endodôntico, foram mensurados através de régua milimétrica. Os halos de inibição

foram medidos e comparados nas primeiras 24 horas, e novamente após 72 horas, sendo avaliados em até 21 dias, em três diferentes ensaios. O *Enterococcus faecalis* demonstrou ser resistente à maioria dos materiais, que não apresentaram nenhum halo de inibição bacteriana, sendo eles: MTA Angelus® branco, MTA Angelus® HP, cimento Filapex Angelus®, sealer 26®, AH Plus®, Endofill® e Maxxion R®. Nos três ensaios foram observados halos de inibição no material: clorexidina gel 2% associada ao hidróxido de cálcio. Demonstrando que *Enterococcus faecalis* foi resistente a maioria dos materiais testados, sendo sensível apenas ao hidróxido de cálcio com clorexidina 2% gel, que foi efetivo em todos os ensaios em até os 21 dias mensurados.



Fonte: Produzido pelo autor (2017)

DISCUSSÃO

O preparo químico-mecânico reduz grande parte da microbiota dos canais radiculares infectados, no entanto, Byström, Claesson e Sundqvist ; Sjögren et al. (1996) enfatizaram a necessidade do uso de medição intracanal a fim de evitar que as bactérias sobreviventes ao preparo químico-mecânico, em número suficiente e em ambiente favorável, se multipliquem no intervalo entre as sessões do tratamento. Portanto, se torna evidente a necessidade de manter-se a desinfecção do canal obtida

pelo preparo químico-mecânico, sendo possível por meio da utilização de uma medicação intracanal adequada que apresenta propriedades antimicrobianas e que funcione como barreira física, de uma ideal obturação do sistema de canais radiculares e de um adequado selamento coronário.

Além disso, a medicação intracanal tem a intenção de reduzir a inflamação perirradicular, solubilizar matéria orgânica, neutralizar produtos tóxicos, controlar a exsudação persistente, controlar a reabsorção dentária externa inflamatória e estimular a reparação por tecido mineralizado. Com esse objetivo, várias opções de medicações intracanal vem sendo pesquisadas. Estudos comprovam a eficiência de uns, mais que de outros, os quais estão presentes na rotina odontológica. Usou-se o método de difusão em ágar, devido ser considerado padrão e de fácil execução. Estudos como o de TORABINEJAD et al. (1995) já utilizaram esta metodologia.

Os materiais testados neste estudo foram Sealer26®, AH Plus®, cimento MTA Filapex Angelus®, MTA Angelus® branco, MTA Angelus® HP, Ionômero de vidro restaurador MaxxionR®, Hidróxido de cálcio com Clorexidina em gel 2% e Endofill®. Porém apenas o Hidróxido de cálcio com Clorexidina teve real eficiência contra o *Enterococcus Faecalis*, assim como já foi registrado por estudos similares (DELGADO, 2007), sendo este o microrganismo de escolha para realização dos experimentos, por possuir uma considerável resistência a substâncias químicas auxiliares e medicações comumente utilizadas em Endodontia, além de estar freqüentemente associado à presença de lesões perirradiculares persistentes e ao insucesso no tratamento endodôntico. É um microrganismo anaeróbio facultativo, relativamente fácil de ser cultivado e de alta relevância clínica (LOVE (2001), PINHEIRO et al., 2003). Pode ser comumente isolada de amostras clínicas, apresenta peculiar resistência ao hidróxido de cálcio, em especial, aos níveis elevados de pH resultante da dissociação dos íons hidroxila que ocorrem em meio aquoso (ESTRELA et al., 1998; ESTRELA et al., 1999; SIQUEIRA et al., 2007).

Por apresentar-se na forma de pó, o hidróxido de cálcio deve ser associado a outras substâncias para poder ser inserido dentro do canal radicular. Usualmente, o hidróxido de cálcio utilizado na prática endodôntica é manipulado com soro fisiológico que é hidrossolúvel e sendo estes uma associação, que possuem juntos características químicas de dissociação, difusibilidade e capacidade de preenchimento que são determinantes para o comportamento biológico (ESTRELA et al., 1999). No entanto, segundo Rached (2010), microrganismos específicos,

principalmente *Enterococcus faecalis*, têm-se mostrado resistentes ao Ca(OH)_2 (HAAPASALO & ORSTAVIK 1987; WALTIMO et al., 1999) e além disso, a eficiência antimicrobiana das pastas a longo prazo tem sido questionada (PETERS et al., 2002). Dessa maneira, pesquisas como esta têm sido desenvolvidas acrescentando veículos ativos com propriedades antimicrobianas associados ao hidróxido de cálcio de maneira a aumentar esta atividade, sem perder suas demais características (VIVACQUA-GOMES, 2002; GOMES et al., 2003, 2006; BASRANI et al., 2004; SIGNORETTI, 2009).

Estrela et al. (1995), discutiram os mecanismos da ação do hidróxido de cálcio no tratamento das infecções endodônticas. Os autores ressaltaram que o efeito do hidróxido de cálcio está ligado à elevação do pH resultante da dissociação, em meio aquoso, em íons hidroxila e íons cálcio. O hidróxido de cálcio atua na ativação de enzimas teciduais do hospedeiro como a fosfatase alcalina que participa da recuperação dos tecidos mineralizados afetados pela infecção endodôntica. Nas bactérias, age alterando a integridade de sítios essenciais promovendo a inativação de enzimas da membrana citoplasmática interferindo assim, em processos metabólicos, homeostáticos, crescimento e divisão celular. Portanto, as ações do hidróxido de cálcio ocorrem em duas frentes, biológica, favorecendo os mecanismos de defesa e a reparação dos tecidos afetados do hospedeiro, como também bacteriológica, por meio da ação antimicrobiana. Estas ações terapêuticas fazem com que o hidróxido de cálcio prevaleça entre os princípios ativos das medicações intracanaís, porém, apesar da particular eficiência na ação por contato direto no canal principal, sua atuação no pH do interior dos túbulos dentinários e na região do cimento não é tão significativa, demonstrando uma deficiência.

O hidróxido de cálcio apresenta algumas limitações, como por exemplo, uma baixa solubilidade e baixa difusibilidade, e ação apenas por contato direto, o que dificulta a chegada dessa substância aos locais de difícil acesso em dentes que apresentam variações anatômicas, como istmos, deltas apicais, reentrâncias, locais estes onde as bactérias estão protegidas da ação das medicações intracanaís. A solução de digluconato de clorexidina a 2%, quando aplicada por 10 minutos, anteriormente à obturação endodôntica, é capaz de adentrar no tecido dentinário e proporcionar a ação antimicrobiana por mais de 12 semanas, ainda que essa capacidade seja reduzida em função do tempo, tornando-a uma ótima aliada ao hidróxido de cálcio. A utilização do digluconato de clorexidina a 2% como medicação

intracanal pode ser indicada em casos com periodontite apical crônica, utilizando-se alternadamente como solução irrigadora durante o preparo químico-mecânico ou como medicação intracanal entre as sessões (ZAMANY, SPANGBERG; SAFAVI, 2003).

A atividade do gluconato de clorexidina a 0,2% na redução da população antimicrobiana remanescente após a instrumentação do canal como curativo de demora foi mostrado por Delany et al. (1982). Devido à seu amplo espectro antimicrobiano, a clorexidina tem sido amplamente utilizada na Endodontia. Seu uso tem sido proposto na forma de sal digluconato, líquido ou em gel, em diferentes concentrações, como medicação intracanal. Ohara et al. (1993) avaliaram a atividade antimicrobiana de seis irrigantes contra bactérias anaeróbias e relataram que a clorexidina foi a mais efetiva. Quando usada como medicação intracanal, a clorexidina teve um efeito melhor que o hidróxido de cálcio na eliminação de *Enterococcus faecalis* do interior dos túbulos dentinários. Sendo ela o material que demonstrou maior eficácia contra este microrganismo, nos testes realizados por este estudo. O que corrobora com alguns estudos mais atuais como Gomes BP, et al. 2003 e Saatchi M, et al. 2014, que relatam similar eficiência da clorexidina.

Lenet et al. (2000) compararam, *in vitro*, a atividade antimicrobiana residual da clorexidina gel a 0,2% e 2%, em um sistema de liberação controlada, e do hidróxido de cálcio associado à solução salina, como medicação intracanal, em incisivos bovinos, por 7 dias. Após o período experimental, os espécimes foram inoculados em *Enterococcus faecalis* por 21 dias. Os resultados mostraram que a clorexidina gel a 2% teve ausência de bactérias viáveis em todas as profundidades da dentina. Segundo Vianna (2005), a clorexidina gel a 2% apresentou maior atividade antimicrobiana. A associação do hidróxido de cálcio com a clorexidina gel a 2% diminuiu a atividade antimicrobiana da clorexidina, no entanto, potencializou a do hidróxido de cálcio. Este efeito da clorexidina sob o hidróxido de cálcio foi avaliado por Barbin (2008, p.96) que demonstrou a precipitação total da clorexidina quando em contato com o elevado pH. E desta precipitação, foram gerados subprodutos sendo eles responsáveis pela atividade antimicrobiana adicional ao hidróxido de cálcio. Estudos sobre estes subprodutos devem ser encorajados, para uma melhor reflexão sobre seus benefícios e consequências.

Estudos mostram que a clorexidina apresenta maior capacidade em eliminar o *Enterococcus faecalis* do que o hidróxido de cálcio (QUIDUTE; AGUIAR, 2003;

ERCAN et al., 2007; ESTRELA; PÉCORA, 1999). Porém, Silva et al. (2004), revelam resultados insatisfatórios para a clorexidina, principalmente quanto à incapacidade de inativar o LPS liberado pelas bactérias Gram-negativas. Todavia o hidróxido de cálcio é capaz de neutralizar endotoxinas bacterianas, especialmente, o lipopolissacarídeo (LPS) presente na parede celular das bactérias Gram negativas por meio da hidrólise do lipídio que compõe parte da molécula do LPS. Ressalta-se que o "Lipid A", que é responsável pela ação biológica ou antigênica do LPS, é hidrolisado quando submetido a níveis de pH extremamente elevados, assim como os gerados pelo hidróxido de cálcio em meio aquoso (ESTRELA et al. 1999; ESTRELA et al. 1995). Sendo que o digluconato de clorexidina não altera o pH da medicação com hidróxido de cálcio, presume-se que a sua ação antimicrobiana e capacidade de inativação do LPS bacteriano não seja alterada (BASRANI et al., 2004). Também foi observada nesta associação, o fato do hidróxido de cálcio poder atuar como barreira física enquanto a clorexidina, em função da sua substantividade, mantém o canal livre de microrganismo (KOMOROWSKII et al., 2000).

Mesmo o hidróxido de cálcio apresentando baixa solubilidade em água (1,2 g/L a 25°C) e isto limitar a sua difusibilidade, observa-se halos de difusão em ágar para todas as associações a base de hidróxido de cálcio. No entanto, constatou-se a ineficiência do hidróxido de cálcio propriamente dito frente ao *Enterococcus faecalis* como foi observado por outros pesquisadores (SIQUEIRA JR et al., 1997).

CONCLUSÃO

Conclui-se que a pasta hidróxido de cálcio associado a clorexidina possui atividade antimicrobiana satisfatória contra *Enterococcus Faecalis NEWP 0012* no período de 24h a 21 dias.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço primeiramente a **Deus**, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, e socorro presente na hora da angústia.
- Agradeço e dedico esta, bem como todas as minhas demais conquistas, aos meus amados pais: **Wilson de Oliveira Cardoso e Luzia de Azevedo Cardoso** e as

minhas irmãs: **Talita Azevedo** e **Talicy Azevedo**, e a toda minha família pelo apoio e incentivo em minha jornada.

- Agradeço também ao meu namorado **Marc Smith** que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades, mesmo com a distância.
- Agradeço ao **Felipe**, meu companheiro leal, que esteve sempre ao meu lado com uma magnífica capacidade de me fazer rir e me acalmar nos dias bons e ruins.
- Agradeço também a todos os professores que me acompanharam durante a graduação, em especial ao meu orientador: Professor **Eduardo Fernandes Marques**, que me insentivou e tornou tudo isso possível. À Professora **Karina Scolari Gosch**, uma dos responsáveis pela realização deste trabalho. Aos professores **Alcides Gomes de Oliveira** e **Natércia Rezende da Silva** por me doarem seu tempo e atenção a favor deste trabalho. E aos professores **Edwards Barbosa da Silva** e **Mônica Lima Lopes Tolentino** pelo dom de nos transmitir seus conhecimentos com paciência e sabedoria.

REFERÊNCIAS

BARBIN, Eduardo Luiz. **Análise química da clorexidina misturada ou não ao hidróxido de cálcio**. Ribeirão Preto, 2008. 116 p.: il.; 28 cm. Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, SP.

BYSTRÖM, A.; CLAEISSON, R.; SUNDQVIST, G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. **Dent Traumatol**, v. 1, n. 5, p. 170–175, October 1985. "doi:10.1111/j.1600-9657.1985.tb00652.x"

BASRANI, B.; GHANEM, A.; TJADERHANE, L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. **J Endod**, v. 30, p. 413-7. 2004

CLEGG MS, VERTUCCI FJ, WALKER C, BELANGER M, BRITTO LR (2006). The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. **J Endod** 32: 434-437.

DELGADO Ronan Jacques Rezende. **Avaliação in vitro da viabilidade de Enterococcus faecalis e Candida albicans nos túbulos dentinários após**. 2007. Tese de Doutorado. Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

DELANY, G. M.; PATTERSON, S. S.; MILLER, C. H.; NEWTON, C. W. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 53, n. 5, p. 518-523, May 1982. "doi:10.1016/0030-4220(82)90469-8"

ERCAN E, DALLI M, DÜLGERGIL T, YAMAN F (2007). Effect of Intracanal Medication with Calcium Hydroxide and 1% Chlorhexidine in Endodontic Retreatment Cases with Periapical Lesions: An In Vivo Study. **J Formos Med Assoc**. 3(106): 217-244.

ERCAN E, OZEKINCI T, ATAKUL F, GUL K (2004). Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. **J Endod** 30(2): 84-7

ESTRELA C, BAMMANN LL. Medicação Intracanal. In: Estrela C, Figueiredo JAP. **Endodontia: princípios biológicos e mecânicos**. São Paulo: Artes Médicas; 1999: 573-644.

ESTRELA C, PÉCORA JD, SOUZA-NETO MD, ESTRELA CR, BAMMANN LL. Effect of vehicle on antimicrobial properties of calcium hydroxide pastes. **Braz Dent J**. 1999;

ESTRELA, C.; SYDNEY, G. B.; BAMMANN, L. L.; FELIPPE JÚNIOR, O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. **Braz Dent J**, v. 6, n. 2, p. 85-90, 1995.

ESTRELA, C.; PIMENTA, F. C.; ITO, I. Y.; BAMMANN, L. L. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. **J Endod**, v. 24, p. 15-17, 1998.
13. GOMES, B. P. F. A.; VIANNA, M. E.; SENA, N. T.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. R.; SOUZA FILHO, F. J. 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**, v. 102, n. 4, October 2006.

GOMES BP, VIANNA ME, SENA NT, ZAIA AA, FERRAZ CC, DE 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 Endod.** 2003; 102(4): 544-50.

GUASTALDI AC, APARECIDA AH. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Quim Nova** 2010;33(6):1352-8.

HAAPASALO M, Ørstavik D (1987). **In vitro infection and disinfection of dentinal tubules.** J Dent Res 66: 375-379.

KOMOROWSKI, R.; GRAD, H.; WU, X. Y.; FRIEDMAN, S. Antimicrobial Substantivity of Chlorhexidine-Treated Bovine Root Dentin. **J Endod**, v. 26, n. 6, June 2000.

LENET BJ, Komorowski R, Wu XY, et al. **Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles.** J Endod 2000; 11: 652-5.

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

OHARA PK, Torabinejad M, Kettering JD. **Anti-bacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria.** Endodontic Dental Traumatology 1993;9:95-100.

PATERSON RC, WATTS A (1987). Pulp-pingstudieswithanalarcalciumhydroxideandzinc oxide-eugenol. **IntEndod J** 20: 169-176.

PETERS LB, WESSELINK PR. Periapical healing of endodontically treated teeth in one and two visits obturated in the presence or absence of detectable microorganisms. **Int Endod J** 2002; 35:660–667.

PINHEIRO, J.T. Avaliação de quatro métodos de colocação de curativo de demora à base de hidróxido de cálcio. **Pesq Odont Bras**, v.15, supl., p.135, 2003.

RACHED, GPA. **Capacidade das substancias químicas auxiliares em remover medicações intracanaís:** estudo por MEV. Dissertação de mestrado. Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP- 2010.

SIQUEIRA JF JR (2002). Endodontic infections: concepts, paradigms and perspectives. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 94: 281-293.

SIQUEIRA, J. F.; GUIMARÃES-PINTO, T.; RÔÇAS, I. N. Effects of chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite and intracanal medication with calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. **J Endod**, v 33, n 7, p. 800–805, July 2007 b. "doi:10.1016/j.joen.2006.11.023"

SIQUEIRA, J. F.; UZEDA, M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. **J Endod**, v. 23, n. 3, p. 167-169, 1997.

SAATCHI M; SHOKRANEH A; NAVAEI H; MARACY MR; SHOJAEI H; **Antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine on Enterococcus faecalis**. J Appl Oral Sci. 2014 Sep-Oct;22(5):356-65.

SJOGREN U (1996). **Success and failure in Endodontics**. (Odontological Dissertations № 60). Umea, Sweden: Umea University.

SIGNORETTI FGC. **Avaliação in vitro da influencia da clorexidina 2% gel no pH, liberação de cálcio e ação sobre as endotoxinas do hidróxido de cálcio**. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP- 2009.

SILVA, L. A.; LEONARDO, M. R.; ASSED, S.; TANOMARU FILHO, M. Histological study of the effect of some irrigating solutions on bacterial endotoxin in dogs. **Braz. Dent. J.**, v. 15, n.2, p. 109-114, 2004.

TORABINEJAD, M., FORD, T. R. P., KETTERING, J. D. **Antibacterial effects of some root end filling materials**. Journal of Endodontics. 1995;

TYLER BJ, RANGARANJAN S, MULLER J, BEUMER A, ARLINGHAUS HF (2006). TOFIMS imaging of chlorhexidine gluconate transport in frozen hydrated biofilm soft fungus *Candida albicans*. **Appl Surf Sci** 252: 6712–6715.

VIVACQUA-GOMES N. **Avaliação in vitro da ação antimicrobiana da clorexidina gel 2% usada como medicação intracanal contra Enterococcus faecalis**. Dissertação de mestrado. Faculdade de Odontologia de Piracicaba, 2002.

VIANNA ME, Gomes BP, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. **In vitro evaluation of the susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide combined with different vehicles.** *Braz Dent J* 2005 16(3):175-80.

WALTIMO, T. M.; ØRSTAVIK, D.; SIRÉN, E. K.; HAAPASALO, M. P. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J*, v. 32, p. 421–9, 1999.

ZAMANY A, SAFAVI K, SPÅNGBERG LSW, CONN F (2003). The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 96: 578-81.