

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Carlos Estrela

Eficácia Antimicrobiana de Pastas de Hidróxido de Cálcio.

Ribeirão Preto

1997

CARLOS ESTRELA

**EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DE PASTAS DE
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO**

*Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do
Título de Livre-Docente.*

Ribeirão Preto

1997

Estrela, Carlos

S735

Eficácia antimicrobiana de pastas de hidróxido de cálcio.

100 p. 28 cm

Tese apresentada à FORP-USP - Departamento de Odontologia
Restauradora

CDU 616.314.18 - Endodontia



Este trabalho foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Endodontia do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

O que for a profundidade do teu ser, assim será teu destino. O que for o teu desejo, assim será tua vontade. O que for a tua vontade, assim serão teus atos. O que forem teus atos, assim será teu destino.

“Brihadaranyaka Upanishad IV”

Dedicatória

Ao nosso Senhor Jesus Cristo, sempre presente em minha vida, pela sua imensa misericórdia e disposição em nos presentear com a vida eterna.

Aos meus queridos Mestres da Escola da vida, Odilon e Maria, pela paciência, carinho, amor e constante incentivo.

Agradecimentos

À querida amiga e eterna Professora LILI LUSCHKE BAMMANN, que continuamente caminha ao meu lado, de mãos dadas comigo e com a microbiologia, proporcionando-me incentivo, orientação segura, reflexão precisa. Seu exemplo de dedicação, a seriedade no trabalho, no ensino e na pesquisa muito me motiva. Mas acima de todas estas virtudes, o carinho e a atenção nos mantém muito próximos. Além de tudo, você é uma pessoa muito especial e graciosa.

À Professora FABIANA CRISTINA PIMENTA amiga constante, que tem o mesmo ideal que o meu, aprender e descobrir. Agradeço todas as oportunidades, a atenção, a dedicação, presteza e boa vontade na realização deste e de todos os trabalhos que faremos em conjunto.

Ao Prof. Dr. Jesus Djalma Pécora, pela amizade, incentivo e oportunidade que tens me proporcionado ao longo do caminho do magistério. Muito, mas muito obrigado por tudo.

Ao Prof. Dr. Hildeberto Francisco Pesce, pela amizade, pela acolhida, pelos bons momentos durante o Doutorado e por todos os ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Ibsen Wetzel Stephan, pela eterna e fiel amizade, que devo a condução nos caminhos do ensino, o meu respeito, admiração e carinho.

Ao Prof. Dr. Roberto Holland, pelo entusiasmo da contínua tarefa de nos ensinar os mandamentos da docência e da pesquisa, pela paciência, estímulo constante e dedicação. Agradeço muito todo o investimento em minha pessoa e atenção.

Ao Prof. Dr. Hélio Pereira Lopes, pelo apoio constante, incentivo, dedicação ao ensino e a pesquisa. Obrigado por todos os ensinamentos, pela simplicidade, carinho e grande amizade. Muito obrigado.

À Professora Dra. Izabel Yoko Ito, que pela amizade, simplicidade, atenção, carinho e por todos ensinamentos, tem nos unido em comunhão com a ciência. Muito obrigado por tudo.

Aos Companheiros e amigos da Endodontia, Prof. Dr. José Antônio Poli de Figueiredo, Prof. Dr. Gilson Blitzkow Sydney, Prof. Dr. Fernando Branco Barletta, pela amizade, incentivo, apoio, presença sempre constante, e auxílio nesta longa estrada da ciência.

A todos Professores, Amigos, Alunos e Funcionários, que caminham conosco em busca de uma evolução científica, que constantemente nos incentivam, apoiam e nos ensinam.

Aos meus queridos Irmãos, Maria das Graças, Maria Luiza, Fernando, Ruitier, Vasco, Márcio e Marcos, pelo apoio, participação, incentivo, carinho e união.

A Cynthia Rodrigues de Araújo, pelo companheirismo, atenção especial, colaboração na realização deste trabalho, carinho e por todos os momentos legres que temos passado juntos.

A toda proteção, ajuda e incentivo que tenho recebido dos Irmãos de Luz.

SUMÁRIO

Resumo

1 Introdução	1
2 Retrospectiva da Literatura	6
2.1 <i>Características da Citologia Bacteriana</i>	<i>8</i>
2.2 <i>Características Químicas do Hidróxido de Cálcio.....</i>	<i>11</i>
2.3 <i>Mecanismo de Ação do Hidróxido de Cálcio.....</i>	<i>18</i>
2.4 <i>Características Antimicrobianas da Pasta de Hidróxido de Cálcio</i>	<i>24</i>
3 Proposição	43

4 Material e Método.....	44
4.1 <i>Mecanismos Indicadores</i>	44
4.2 <i>Preparo das Medicações Intracaneais</i>	45
4.3 <i>Teste de Atividade</i>	47
5 Resultados.....	51
6 Discussão.....	56
7 Conclusões	79
8 Referências Bibliográficas	81

Summary

Resumo

Estudou-se a eficácia de diferentes pastas de hidróxido de cálcio sobre o *Streptococcus mutans*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* e a mistura destes. Após imersão por três minutos de 924 cones de papel absorventes em suspensão de *Brain Heart Infusion* (BHI), contendo estes microrganismos, os cones foram completamente cobertos por pastas de hidróxido de cálcio contendo soro fisiológico, paramonoclorofenol associado ao Furacin[®], solução de paramonoclorofenol a 1%, paramonoclorofenol canforado, Clorexidina a 1%, Flagyl[®] e soro fisiológico, Otosporin[®], solução Lauril sulfato de sódio - 3%, e isoladamente por paramonoclorofenol - Furacin[®], soro fisiológico e Ágar-ágar. Em intervalos de 1 minuto, 48, 72 horas e 7 dias, os cones foram removidos destas pastas e imersos em *Letheen Broth*, incubados a 37° C por 24 a 48 horas. A análise dos resultados demonstrou que o paramonoclorofenol associado ao Furacin[®] inibiu o crescimento de todos os microrganismos testados e da mistura destes, em todos períodos experimentais. A pasta contendo Clorexidina a 1%, foi a única que inibiu o crescimento da

mistura em todos os períodos. O grupo da pasta com Flagyl[®] eliminou o *S.mutans* somente após 72 horas. As pastas com soro fisiológico, solução de PMC-1%, Clorexidina-1%, Flagyl[®], solução de lauril sulfato de sódio não eliminaram o *S. faecalis* em 1 minuto. O *S.aureus* resistiu a pasta com Flagyl[®] em 1 minuto e 48 horas, sendo inativado após 48 horas quando os veículos foram o soro fisiológico, solução PMC-1% e solução lauril sulfato de sódio. A *P.aeruginosa* não foi inativa pela pasta com Flagyl[®] em 1 minuto e 48 horas, e em 1 minuto pelo Calen[®] com PMCC e com as pastas contendo solução de PMC-1%, clorexidina-1% e solução lauril sulfato de sódio. O *B.subtilis* manteve-se resistente na pasta com soro fisiológico em 1 minuto e 48 horas, sendo inativado pelo Calen[®] com PMCC, pasta com Clorexidina-1% e solução de lauril sulfato de sódio somente em 48 horas. A *C.albicans* em 1 minuto manteve-se resistente nas pastas com soro fisiológico, Calen[®] com PMCC, pasta com Flagyl[®], solução lauril sulfato de sódio e Otosporin[®].

1 Introdução

Os avanços técnicos e científicos observados recentemente marcaram transformações conceituais expressivas nas ciências biológicas. A conquista de novos métodos de pesquisa associada à evolução da biologia celular e molecular, bioquímica, microbiologia e genética, caracteriza várias justificativas dos avanços atuais da Endodontia, decorrente, em especial de sua íntima relação com estas ciências básicas.

O processo de sanificação em endodontia tem sido pesquisado e discutido sobre vários enfoques. É aceito que um dos fatores condicionantes, considerado como pré-requisito para a instalação da patologia pulpar e periapical é a presença de microrganismos. Desta forma, a determinação e o conhecimento dos microrganismos predominantes em canais radiculares infectados representa fator decisivo na escolha de um processo de controle microbiano.

A preocupação com a descoberta de soluções eficazes e práticas para o controle de infecções orgânicas dos canais radiculares e dos tecidos periapicais não é recente. VAN LEEWENHOCK em 1697 observou, com lentes de aumento, pequenas formas de vida presentes na saliva e em materiais provenientes de processos cariosos. LOUIS PASTER, apesar de ser

considerado o descobridor da bactéria, não analisou o papel destes microrganismos em infecções clínicas, permitindo este estudo a VEILLON & ZUBER. MILLER no período de 1880 a 1894, por meio de observações microscópicas, demonstrou a presença de distintos tipos de microrganismos na polpa dentária necrótica. Os estudos iniciais de bactérias anaeróbias têm sido relatados pertencerem aos anos de 1900. VICENT em 1905 reporta a frequente presença de *Fusiformes* e *Espiroquetas* em periostite dentária, enquanto que BAUGARTNER em 1908 observou estes mesmos tipos morfológicos em exsudato decomposto removido de polpa necrosada (MILLER, 1890, 1894; NOLTE, 1982; SLOTS & TAUBMAN, 1992; NISENGARD & NEWMAN, 1994).

As numerosas espécies de microrganismos constituintes da microbiota de canais radiculares infectados somente puderam ser isoladas e estudadas após o desenvolvimento de técnicas modernas de coleta e de transporte para cultura e isolamento dos diferentes tipos de microrganismos (BROWN & RUDOLPH, 1957; McDONALD et al., 1957; SOCRANSKY et al., 1959; WINKLER, 1959; MOLLER, 1966; ARANKI et al., 1969; GORDON, 1971; FULGHUM et al., 1973; SUNDQVIST, 1976; ZIELKE et al., 1976; DAHLÉN & HOFSTAD, 1977; BERGENHOLTZ, 1977; SUNDQVIST et al., 1979; DAHLÉN & BERGENHOLTZ, 1980; HAAPASALO, 1986; SUNDQVIST, 1992). Posteriormente à evolução das técnicas de identificação dos microrganismos, constatou-se que as infecções presentes nos canais radiculares eram mistas, com predominância de bactérias anaeróbias Gram-negativas.

O metabolismo energético das bactérias encontradas nestas infecções mistas do canal radicular pode ser realizado graças à respiração ou à fermentação. O efeito do oxigênio sobre estas bactérias permite classificá-las em aeróbias, microaerófilas e anaeróbias.

As bactérias anaeróbias encontradas nestas infecções polimicrobianas exercem função primordial na produção de enzimas e endotoxinas, mostrando-se responsáveis por diferentes reações que podem potencializar a infecção: promovem a inibição da quimiotaxia dos neutrófilos e fagocitose; garantem a migração de enzimas lisossômicas; participam da resposta imunológica do sistema complemento (C 3 e C 5); induzem a produção de anticorpos, além de interferir com a sensibilidade antibiótica resultando na manutenção de lesões periapicais dolorosas. Esta íntima correlação entre bactérias presentes em canais radiculares infectados e sintomas clínicos característicos de periodontites apicais agudas atualmente está melhor esclarecida (DAHLÉN & HOFSTAD, 1977; SUNDQVIST, 1976; SUNDQVIST et al. 1979; DAHLÉN & BERGENHOLTZ, 1980; SUNDQVIST & JOHANSSON, 1980; GRIFFE et al., 1980; MOLLER

et al., 1981; YOSHIDA , 1987; BROOK et al., 1991; HORIBA et al., 1991; BAUMGARTNER, 1992).

A potencialização das infecções do canal radicular e da região periapical ocorre comumente em virtude do predomínio de bactérias anaeróbias (SUNDQVIST et al., 1979; DAHLÉN & BERGENHOLTZ, 1980; ANDO & HOSHINO, 1990). As bactérias aeróbias facultativas, capazes de crescer tanto na presença quanto na ausência de oxigênio, também têm sido associadas às infecções periapicais. TRONSTAD (1992) relata que em canais repetidamente abertos e fechados devido à presença de dor, de pacientes submetidos a tratamentos inadequados, incluindo antibioticoterapia incorreta, foram encontradas *Enterobacterias sp.*, *Escherichia coli*, *Proteus e Klebsiella*. Outras bactérias facultativas são evidenciadas nas infecções endodônticas persistentes, como a *Pseudomonas aeruginosa* e o *Streptococcus faecalis* (MIRANDA, 1969; STEVENS & GROSSMAN, 1983; HAAPASALO & ORSTAVIK, 1987; BARNETT et al., 1988; RANTA et al., 1988; SAFAVI et al., 1990).

A eliminação dos microrganismos de canais radiculares infectados com periodontites apicais tem sido uma constante preocupação, demonstrada por pesquisas que avaliaram a eficácia da instrumentação mecânica, a influência da irrigação e medicação intracanal e sistêmica, na busca de alternativas de tratamento antimicrobiano para esta patologia (BYSTROM & SUNDQVIST, 1981; TRONSTAD et al., 1990; HOLLAND et al., 1992; ASSED, 1993; ESTRELA et al., 1995; SYDNEY & ESTRELA, 1996).

O controle antimicrobiano do canal radicular é delegado à sanificação proporcionada pela fase do preparo químico-mecânico. Embora expressiva redução de microrganismos tenha sido observada após a conclusão da limpeza e da modelagem, alguns trabalhos demonstraram a necessidade da medicação intracanal entre sessões, com o objetivo de potencializar o processo de sanificação do sistema de túbulos dentinários (BYSTROM & SUNDQVIST, 1981; BYSTROM et al., 1987; ASSED, 1993; SYDNEY & ESTRELA, 1996). Outros trabalhos relataram que o emprego da medicação intracanal favorece o processo de reparação tecidual após o tratamento de dentes despulpados (HOLLAND et al., 1979, 1983).

Baseado na evidência do papel dos microrganismos no desenvolvimento e manutenção de infecções no canal radicular e na região periapical, parece oportuno reportar que a presença de microrganismos durante o tratamento endodôntico pode não conduzir ao fracasso, mas certamente, sua ausência favorece o sucesso.

A polêmica estabelecida em épocas passadas, na fase dita medicamentosa da Endodontia, muito provavelmente, encontra-se justificada devido às indefinições nos conceitos de modelagem e sanificação, que posteriormente à melhoria e desenvolvimento de novos materiais e *designs* para a confecção de instrumentos endodônticos, associados ao emprego de substâncias químicas dotadas de excelentes propriedades antimicrobianas, possibilitaram redução no destaque que vinha recebendo. Assim que foram vencidos obstáculos como estes, definiram-se condutas aplicáveis e funcionais, resguardando os princípios biológicos da Endodontia.

A identificação da microbiota presente nos canais radiculares infectados é fator decisivo na seleção da medicação intracanal. O raciocínio atual direciona-se ao emprego de medicação intracanal dotada de potencialidade de ação eficaz frente aos diferentes tipos respiratórios de microrganismos (aeróbios, microaerófilos e anaeróbios). O foco de atenção para a eliminação microbiana está voltado às condições determinantes ao crescimento e multiplicação, ou seja, que apresente influência na atividade enzimática das bactérias, tais como: pH, temperatura, pressão osmótica, concentração de oxigênio, concentração de dióxido de carbono e concentração de substrato. Por conseguinte, estabelece um dos quesitos na escolha da medicação intracanal, visto que o outro quesito é derivado de sua inocuidade e favorecimento à reparação tecidual.

O hidróxido de cálcio é a medicação intracanal mais empregada atualmente, que mediante a literatura, permanece firme frente às exigentes provas da pesquisa e do tempo.

A dissociação iônica do hidróxido de cálcio em íons cálcio e íons hidroxila e o efeito destes íons sobre os tecidos e os microrganismos possibilitaram tal consagração. ESTRELA et al. (1994) acreditam que seu representativo destaque entre os fármacos endodônticos deve-se graças a duas expressivas propriedades enzimáticas: a primeira é a inibição de enzimas bacterianas, a partir da ação em nível de membrana citoplasmática, conduzindo ao efeito antimicrobiano e a segunda é a ativação enzimática tecidual, observada por sua ação sobre a fosfatase alcalina, gerando efeito mineralizador. Estas propriedades são decorrentes de seu elevado pH, com valores aproximados de 12,6, o que estabelece alta liberação de íons hidroxila.

ESTRELA & PESCE (1996) mediante análise química de pastas de hidróxido de cálcio, frente à liberação de íons cálcio, de íons hidroxila, na presença de tecido conjuntivo de cão, reportam que o veículo acrescido ao hidróxido de cálcio pró-análise para a confecção da pasta, influencia na velocidade de dissociação iônica, nas propriedades físico-químicas e, conseqüentemente, na ação antimicrobiana e mineralizadora. A velocidade de dissociação iônica,

também é influenciada pela diferença de viscosidade dos veículos empregados, sua hidrossolubilidade ou não, e pela proporção pó-líquido das pastas.

A pasta de hidróxido de cálcio tem sido preparada com vários veículos, a saber: solução aquosa de metil celulose, água destilada, solução fisiológica, solução anestésica, polietileno glicol, propilenoglicol, paramonoclorofenol canforado, óleo de oliva, lipiodol (BERK, 1950; LAWS, 1962; MAISTO & CAPURRO, 1964; HOLLAND et al., 1978, 1983; STAMOS et al., 1985; LOPES et al., 1986; BRAMANTE et al., 1986; SILVA et al., 1991; FAVA, 1993; LEONARDO et al., 1993; ESTRELA et al., 1995; LOPES et al. 1996; ESTRELA & PESCE, 1996, 1997).

Algumas avaliações registram comparações entre os veículos empregados nas pastas de hidróxido de cálcio no que concerne à inibição bacteriana, compatibilidade biológica e medidas de pH (LAWS, 1962), análise histológica (HOLLAND et al., 1983, 1993), histomorfológica (CÉSAR, 1980; HOLLAND et al., 1983), histopatológica (PROVENCIO, 1982; HOLLAND et al., 1993), velocidade de dissociação iônica e características ácido-base (ESTRELA & PESCE, 1996), difusão dentinária iônica (ESTRELA et al., 1995); efeito antimicrobiano (ANTHONY et al., 1982; DIFIORI et al., 1983; HAAPASALO & ORSTAVIK, 1987; ESTRELA et al., 1995, 1997; SIQUEIRA Jr et al., 1996, 1997), efeito do pH sobre o hidróxido de cálcio (STAMOS et al., 1985), formação de carbonato de cálcio (ESTRELA et al., 1997).

A multiplicidade de veículos empregados nas pastas de hidróxido de cálcio demonstra a ausência de consenso entre a substância que deve ser eleita para associar ao hidróxido de cálcio pró-análise, com vistas a melhorar algumas de suas propriedades. No entanto, ESTRELA et al. (1997) ao avaliar o efeito antimicrobiano direto do hidróxido de cálcio relaciona a ação antimicrobiana com a liberação de íons hidroxila, a qual requer tempo ideal de ação para a efetiva destruição dos microrganismos, quer por contato direto na luz do canal radicular, ou indireto nos túbulos dentinários. O tempo necessário para que a pasta de hidróxido de cálcio isoladamente ou associada à ação dos irrigantes endodônticos atue sobre microrganismos considerados resistentes a agentes antimicrobianos, tem sido questionado e ainda não está bem definido.

Considerando os fatos analisados, deve-se admitir a carência de pesquisas preocupadas em analisar o tempo ideal de ação para o efeito antimicrobiano das pastas de hidróxido de cálcio acrescidas a diferentes veículos, o que parece justificável e oportuno, fornecendo subsídios científicos para que se determine o veículo mais adequado para a utilização.

2 Retrospectiva da Literatura

A dinâmica existente entre microrganismo, virulência e resposta orgânica incentivou o desenvolvimento de pesquisas que proporcionam explicações e definições mais compreensíveis e convincentes da íntima relação entre microbiologia e patologia.

A presença e distribuição de microrganismos em canais radiculares infectados e sua influência como expressivo precursor das reações inflamatórias da polpa dental e dos tecidos periapicais estabeleceram uma importante associação de causa e efeito, definindo melhor alguns parâmetros de respostas a diferentes injuriantes.

SHOVELTON (1964) estudou a presença e distribuição de microrganismos em dentes desvitalizados de 97 pacientes, provenientes de processos cariosos ou traumáticos. Os resultados mostraram maior percentual de microrganismos na região cervical, quando comparados com os terços médio e apical da raiz. Os dentes portadores de processos crônicos evidenciaram uma maior proporção de microrganismos que aqueles com processos agudos.

KAKEHASHI et al. (1965) observaram o efeito de exposições cirúrgicas de polpas dentais de ratos livres de germes (estéreis) e ratos com microbiota oral indígena. Posterior a exposições mecânicas da polpa dental de molares e sua exposição à cavidade oral, no grupo em que estava presente a microbiota nativa houve presença de destruição pulpar e formação de lesão periapical. No grupo de animais livres de germes não se notou o desenvolvimento de lesão periapical, mas sim, tentativa de reparação pulpar com formação de pontes de osteodentina, demonstrando o potencial de reparação pulpar na ausência de infecção.

Embora o fator etiológico mais frequente de injúria pulpar seja a presença de microrganismos estabelecendo a infecção, uma polpa injuriada por traumatismo (asépticamente) torna-se mais sensível às bactérias infectantes que uma polpa dental saudável.

Para um melhor estudo e compreensão da efetividade e mecanismo de ação das substâncias antimicrobianas torna-se imprescindível conhecer detalhes especiais dos microrganismos. O estudo dos microrganismos engloba o conhecimento de algumas características principais, como: culturais (nutrientes exigidos para o crescimento e as condições físicas que favorecem o desenvolvimento); morfológicas (dimensões das células, seus arranjos, as diferenciações e a identificação de suas estruturas); metabólicas (mecanismos utilizados pelos microrganismos para desenvolver os processos químicos vitais); composição química (identificação dos principais e típicos constituintes químicos das células); antigênicas (componentes químicos especiais das células que fornecem evidências de semelhança entre as espécies) e genéticas (análise da composição dos ácidos nucleicos com a determinação das relações entre o DNA isolado de diferentes microrganismos).

A partir de uma análise morfológica através de estudo microscópico, componentes pertencentes à citologia bacteriana são representativos para o entedimento do mecanismo de ação de fármacos endodônticos com efeitos antimicrobianos, como o conhecimento da parede celular e membrana citoplasmática.

Desta maneira a revista da literatura foi realizada de forma separada, por tópicos representativos, para o contexto do estudo antimicrobiano da medicação intracanal, como: características da citologia bacteriana; características químicas do hidróxido de cálcio; mecanismo de ação do hidróxido de cálcio; características antimicrobianas da pasta de hidróxido de cálcio.

2.1 Características da Citologia Bacteriana

Dentre os fatores relacionados que alteram o metabolismo bacteriano estão os fisiológicos (que englobam a capacidade de síntese, fonte de energia, tensão de oxigênio, temperatura, pH e reprodução) e os bioquímicos (respiração, fermentação, putrefação e outros). Enquanto que entre os componentes enquadrados na virulência estão os fatores de adesão (cápsula, fímbria/fibrila, vesícula); de evasão (cápsula, hidrólise de imunoglobulinas, minetização); de invasão (flagelo, enzimas-colagenase, hialuronidase, coagulase, neuroaminidase, lecitinase, gelatinase, DNAase, aminas-cadaverina e putrecina, indol, escatol, H₂S, ácidos, amônia, ácidos graxos-butirato, propionato e ácido aracdônico) e toxígeno (exotoxina: protéica, imunogênica, neutralizante, toxóide - ação específica e termolábil; endotoxina: lipopolissacarídica, pouco imunogênica, ação inespecífica e termoestável).

A forma da bactérias pode ser observada através de coloração de Gram que divide as bactérias em dois grupos: Gram-positivas e Gram-negativas, aproximadamente iguais em número e importância. A reação das bactérias à técnica de Gram expressa diferentes características, de modo especial no que diz respeito à composição química, estrutura, permeabilidade da parede celular, fisiologia, metabolismo e patogenicidade (BURNETT & SCHUSTER, 1982; NISENGARD & NEWMAN, 1994).

A parede da célula Gram-negativa é constituída por estruturas de múltiplas camadas bastante complexas, que não retêm o corante quando submetidas a solventes nos quais o corante é solúvel, sendo descoloradas e, quando acrescentado outro corante, adquirem a nova coloração. Já a parede da célula Gram-positiva consiste de única camada que retém o corante aplicado, não adquirindo a coloração do segundo corante.

Nas bactérias Gram-negativas, a parede celular está composta por uma camada de peptidoglicano e três outros componentes que a envolvem externamente; lipoproteína, membrana externa e lipopolissacarídeo.

O peptidoglicano, responsável pela forma das células e proteção do citoplasma frente às diferenças de pressão osmótica entre os meios externo e interno, confere rigidez ao corpo bacteriano. Está formado por dois açúcares aminados, o ácido N-acetil glicosamina e o ácido N-acetil murâmico, e por um tetrapeptídio, sempre ligado ao resíduo de ácido N-acetil murâmico; as sub-unidades peptídeas de cadeias glicídicas adjacentes, são unidas entre si por ligações diretas

ou indiretas (pontes de ligação). O peptidoglicano situa-se no espaço periplásmico, localizado entre a membrana citoplasmática (interna) e a membrana externa, onde também são encontradas enzimas hidrolíticas (fosfatases, nucleases, proteases e outras), que facilitam a nutrição bacteriana, proteínas de ligação, que participam da captação de açúcares e aminoácidos a partir do meio, enzimas que inativam certos antibióticos (BURNETT & SCHUSTER, 1982; NISENGARD & NEWMAN, 1994).

A lipoproteína está ligada de modo covalente ao peptidoglicano e não covalente à membrana externa; sua função, inferida de estudos realizados com amostras mutantes, é estabilizar a membrana externa e ancorá-la à camada de peptidoglicano. A membrana externa é uma dupla camada, contendo fosfolípidos e proteínas e apresentando, em sua camada externa, o lipopolissacarídeo.

Entre suas funções, a membrana externa representa uma barreira molecular, prevenindo ou dificultando a perda de proteínas periplasmáticas e o acesso de enzimas hidrolíticas e certos antibióticos ao peptidoglicano; possui receptores para bacteriófagos e bacteriocinas e participa da nutrição bacteriana. O lipopolissacarídeo consiste no lípidio A (endotoxina), à qual estão ligadas duas regiões de natureza polissacarídica, respectivamente, o “core” e as cadeias laterais. O lípidio A é um glicofosfolípido cujo papel biológico consiste na participação nos mecanismos de patogenicidade da célula bacteriana (BURNETT & SCHUSTER, 1982; NISENGARD & NEWMAN, 1994).

Entretanto, a parede celular das bactérias Gram-positiva e Gram-negativa são diferentes. A parede celular da bactéria Gram-positiva é espessa, 10 a 50 μm , chegando até a 80 μm e a da Gram-negativa é menos espessa, 7,5 a 10 μm . A membrana citoplasmática adere fortemente ao componente interno da célula bacteriana. A parede celular da bactéria Gram-positiva é única e consiste de uma camada espessa, composta quase que completamente por peptidoglicano, responsável pela manutenção da célula e sua rigidez. As múltiplas camadas de peptidoglicano (15 a 50 μm) das bactérias Gram-positivas constituem uma estrutura extremamente forte em tensão, enquanto que nas Gram-negativas o peptidoglicano é apenas uma camada espessa e, conseqüentemente frágil (SLOTS & TAUBMAN, 1992; NISENGARD & NEWMAN, 1994).

Como fatores de ataque ou agressão, as células Gram-positivas e Gram-negativas caracterizam-se por graus diferentes de virulência. As bactérias Gram-negativas são constituídas por uma endotoxina, o LPS, que lhes confere a propriedade de patogenicidade, enquanto nas

bactérias Gram-positivas a endotoxina, composta pelo ácido lipoteicoico, tem como característica principal a aderência.

O lipopolissacarídeo (LPS) é o maior fator de virulência, determinando efeitos biológicos que resultam na amplificação das reações inflamatórias. Esta endotoxina é um antígeno fraco não específico que é pobremente neutralizado por anticorpos, sendo capaz de ativar a cascata do complemento. A ativação do complemento envolve a formação de cininas, outro importante mediador da inflamação. Além do mais, ativa plaquetas, mastócitos, basófilos e células endoteliais. O LPS induz os macrófagos a secretarem outras proteínas, as interleucinas (IL-1, IL-6 e IL-8), fator alfa de necrose tumoral (TNF α), oxigênio reativo, nitrogênio intermediário (óxido nítrico), interferon α , β e γ , fatores ativadores de plaquetas e prostaglandinas. Estes são fatores importantes que causam reabsorções ósseas nas lesões periapicais. Mesmo quantidades pequenas de endotoxinas são capazes de induzir a resposta inflamatória periapical. Uma possível explicação para a multiplicidade de achados com endotoxinas é a variabilidade genética do LPS de diferentes microrganismos. As endotoxinas são encontradas em maior quantidade em dentes sintomáticos que naqueles assintomáticos.

Como componente da parede celular das células Gram-positivas está o peptidoglicano, cuja contagem é 40% da massa das células, ligado de modo covalente ao ácido lipoteicoico. Este é composto por polímeros de fosfoglicerol com glicolípídeo no final, sendo potente modificador da resposta biológica. O glicolípídeo e o ácido lipoteicoico se ligam às membranas celulares, particularmente de linfócitos e macrófagos, resultando em ativação celular. São capazes, também, de ativar a cascata do complemento, induzindo a inflamação pulpar e periapical (SCHEIN & SCHILDER, 1975; DAHLÉN & HOFSTAD, 1977; DAHLÉN & BERGENHOLTZ, 1980; FARBER & SELTZER, 1988; SUNDQVIST, 1992; SELTZER & FARBER, 1994).

O Figura 1 mostra esquematicamente a representação tridimensional do envelope celular da bactéria Gram-negativa, segundo HOLT & PROGULSKE em 1994.

Como característica específica da célula bacteriana, ao se comparar com a célula humana, observa-se a parede celular que, em conjunto com a membrana citoplasmática, forma o envelope celular das bactérias.

O envelope celular das bactérias Gram-negativas quimicamente consiste de 20 a 25% de fosfolípídeos e 45 a 50% de proteínas, sendo os 30% restantes de uma lipoproteína, o lipopolissacarídeo.

A membrana citoplasmática localiza-se subjacente à parede celular, é formada por dupla camada fosfolipoproteica e é fundamental na estrutura bacteriana. Atua como barreira osmótica (a substâncias ionizadas e grandes moléculas), é livremente permeável aos íons sódio e aos amino-ácidos (permeabilidade seletiva). Acresça-se que esta membrana é sede de importantes sistemas enzimáticos envolvidos nos últimos estágios da formação da parede celular, participantes da biossíntese de lipídeos, e responsáveis pelo transporte de elétrons, assim como enzimas envolvidas no processo de fosforilação oxidativa.

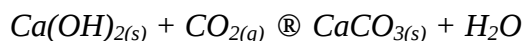
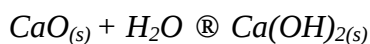
Como sede enzimática, muitas bactérias produzem proteinases que hidrolisam as proteínas uma vez que as bactérias, geralmente, são incapazes de utilizar macromoléculas.

As bactérias, de modo geral, necessitam de condições físico-químicas favoráveis ao seu crescimento e reprodução, e dentre estas encontram-se: temperatura, pH, pressão osmótica, concentrações de substrato, de dióxido de carbono e de oxigênio (BURNETT & SCHUSTER, 1982).

Frente ao conhecimento das estruturas microbianas mais comumente afetadas pelo emprego de uma substância antimicrobiana de uso endodôntico, importa considerar e analisar a dinâmica química, biológica e microbiológica desta substância, cuja preferência atual dado a inúmeras pesquisas, recai no hidróxido de cálcio.

2.2 Características Químicas do Hidróxido de Cálcio

O hidróxido de cálcio apresenta-se como um pó branco, alcalino (pH 12,8), pouco solúvel em água (solubilidade de 1,2 g/litro de água, à temperatura de 25° C). Trata-se de uma base forte obtida a partir da calcinação (aquecimento) do carbonato de cálcio, até sua transformação em óxido de cálcio (cal viva). Com a hidratação do óxido de cálcio chega-se ao hidróxido de cálcio e a reação entre este e o gás carbônico leva à formação do carbonato de cálcio, podendo tais reações assim serem representadas:



s = sólido, g = gás e l = líquido.

As propriedades do hidróxido de cálcio derivam de sua dissociação iônica em íons cálcio e íons hidroxila, sendo que a ação destes íons sobre os tecidos e as bactérias explicam as propriedades biológicas e antimicrobianas desta substância. As alterações nas propriedades biológicas podem também ser esclarecidas pelas reações químicas demonstradas, uma vez que o hidróxido de cálcio na presença de dióxido de carbono transforma-se em carbonato de cálcio apresentando características químicas de um óxido ácido fraco. Este produto formado é desprovido das propriedades biológicas do hidróxido de cálcio, como a capacidade mineralizadora (ESTRELA & PESCE, 1996; ESTRELA et al., 1997).

ESTRELA & PESCE (1996) analisando quimicamente a liberação de íons hidroxila do hidróxido de cálcio, salientaram a obtenção das porcentagens de íons hidroxila:

$$\begin{aligned}Ca(OH)_2 &\textcircled{R} Ca^{2+} + 2OH \\1^{\text{n}}Ca^{2+} &= 40,08 \\1^{\text{n}}OH &= 17,0 \textcircled{R} 2^{\text{n}}OH = 34,0 \\1^{\text{n}}Ca(OH)_2 &= 74,08\end{aligned}$$

Levando-se em conta o peso molecular do hidróxido de cálcio, 74,08, por meio de uma regra de três, obtém-se a porcentagem de íons hidroxila encontrados no hidróxido de cálcio, que corresponde a 45,89%, enquanto que 54,11% corresponde aos íons cálcio.

$$\begin{aligned}74,08 &\textcircled{R} 100\% \\34,0 &\textcircled{R} X \\X &= 45,89\% \\2^{\text{n}} OH &= 45,89\% \\1^{\text{n}} Ca^2 &= 54,11\%\end{aligned}$$

Desta forma, quando se coloca hidróxido de cálcio no canal radicular, 45.89% e 54.11% se dissociam respectivamente em íons hidroxila e íons cálcio. Os autores também estudaram a liberação de íons cálcio e a formação de carbonato de cálcio em implantes de tubos contendo hidróxido de cálcio associado a veículos hidrossolúveis (solução fisiológica, solução anestésica e polietileno glicol 400), em tecido conjuntivo de cão. A análise foi realizada em intervalos de 7, 30, 45 e 60 dias, como está demonstrado nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Determinação condutimétrica de íons cálcio através de titulação com EDTA.

PASTA	V _{EDTA} /ml	% Ca ⁺ Presente	% Ca ⁺ Liberado
Ca(OH) ₂ + Soro Fisiológico	30,8	91,17 - 7 dias	8,83 - 7 dias
Ca(OH) ₂ +Polietileno Glicol	31,5	93,24 - 7 dias	6,76 - 7 dias
Ca(OH) ₂ +Solução Anestésica	30,6	90,58 - 7 dias	9,42 - 7 dias
Ca(OH) ₂ + Soro Fisiológico	29,9	88,50 - 30 dias	11,50 - 30 dias
Ca(OH) ₂ +Polietileno Glicol	31,2	92,35 - 30 dias	7,65 - 30 dias
Ca(OH) ₂ +Solução Anestésica	29,1	86,14 - 30 dias	13,86 - 30 dias
Ca(OH) ₂ +Soro Fisiológico	29,8	88,21 - 45 dias	11,79 - 45 dias
Ca(OH) ₂ +Polietileno Glicol	30,8	91,17 - 45 dias	8,83 - 45 dias
Ca(OH) ₂ +Solução Anestésica	29,0	85,84 - 45 dias	14,16 - 45 dias
Ca(OH) ₂ +Soro Fisiológico	29,2	88,50 - 60 dias	11,50 - 60 dias
Ca(OH) ₂ +Polietileno Glicol	30,3	89,69 - 60 dias	10,31 - 60 dias
Ca(OH) ₂ +Solução Anestésica	29,0	85,84 - 60 dias	14,16 - 60 dias

Tabela 2. Determinação de íons carbonato por volumetria de neutralização.

Pasta	v ml	V ml	V _C ML	Cg / CaCO ₃
Ca(OH) ₂ +Soro Fisiológico	45,7	46,2	0,97	0,1834 - 7 dias
Ca(OH) ₂ +PolietilenoGlicol	51,1	51,4	0,59	0,1116 - 7 dias
Ca(OH) ₂ +Solução Anestésica	42,1	42,7	1,25	0,2364 - 7 dias
Ca(OH) ₂ +Soro Fisiológico	40,1	40,7	1,31	0,2477 -30 dias
Ca(OH) ₂ +Polietileno Glicol	48,1	48,5	0,81	0,1532 -30 dias
Ca(OH) ₂ +SoluçãoAnestésica	39,1	39,8	1,27	0,2402 -30 dias
Ca(OH) ₂ +Soro Fisiológico	40,1	40,7	1,30	0,2459 -45 dias
Ca(OH) ₂ +Polietileno Glicol	41,2	41,9	1,36	0,2572 -45 dias
Ca(OH) ₂ +Solução Anestésica	38,5	39,1	1,31	0,2477 -45 dias
Ca(OH) ₂ +Soro Fisiológico	38,1	38,8	1,49	0,2818 -60 dias
Ca(OH) ₂ +Polietileno Glicol	40,7	41,4	1,32	0,2496 -60 dias
Ca(OH) ₂ +Solução Anestésica	38,4	39,1	1,31	0,2477 -60 dias

Algumas particularidades químicas decorrentes desta dissociação iônica foram observadas em diferentes experimentos. SCIAKY & PISANTI (1960) e PISANTI & SCIAKY (1964) verificaram a origem dos íons cálcio presentes na ponte dentinária, não conseguindo observá-los quando da proteção de polpas dentais expostas de cães com hidróxido de cálcio contendo cálcio radioativo (Ca^{45}), nem quando da injeção intravenosa, em cão, de solução contendo este mesmo hidróxido de cálcio radioativo.

Em contrapartida, vários trabalhos evidenciaram a participação ativa dos íons cálcio do hidróxido de cálcio em mineralizações (barreira de dentina), osteocementárias (selamento biológico apical), nos túbulos dentinários e em outras áreas envolvidas em mineralizações (EDA, 1961; HOLLAND, 1971; HEITHERSAY, 1975; HOLLAND et al., 1978; HOLLAND et al., 1982; PASHLEY et al., 1986; SEUX et al., 1991; WAKABAYASHI et al., 1993).

EDA (1961) estudou, por meio de análise histoquímica, o mecanismo de formação de dentina após proteções pulpares diretas em dentes de cães frente à ação de pastas de hidróxido de cálcio, de óxido de magnésio, de fluoreto de zinco e de fluoreto de cálcio. Relatam, os autores, após período de observação de 30 minutos a 60 dias, que no período inicial a formação de dentina é vista pelo aparecimento de partículas extremamente finas, com reação positiva à coloração de Von Kossa e localizadas subjacentes à camada de necrose. Estas granulações observadas originam-se a partir da reação do metal do material capeador com o dióxido de carbono tecidual. Além do mais, tanto o óxido de magnésio como o hidróxido de cálcio mostraram potentes efeitos sobre a formação de nova dentina. No entanto, relativamente ao óxido de magnésio, SOUZA et al.(1972), após estudo morfológico do comportamento da polpa dentária após pulpotomia e proteção com óxido de magnésio ou hidróxido de cálcio, relatam ser remota a possibilidade de obtenção de reparo quando do emprego do óxido de magnésio. Nas polpas dentais protegidas com hidróxido de cálcio houve maior eficácia, o que testemunha contra falhas técnicas, que poderiam ter ocorrido com o tratamento de óxido de magnésio.

De sua parte, HOLLAND (1971) analisou o processo de reparo da polpa dental após pulpotomia e proteção com hidróxido de cálcio, em estudo morfológico e histoquímico em dentes de cães. Advoga, o autor, que na zona granulosa superficial, interposta entre a zona de necrose e a zona granulosa profunda, ocorreu a presença de granulações grosseiras, dotadas de sais de cálcio, parte das quais constituída por carbonato de cálcio sob a forma de calcita, bem como por complexos cálcio-proteínas. Nessa fração mineral, houve reação positiva ao ácido clorânlico e ao

método de VON KOSSA e resultados semelhantes foram obtidos, posteriormente, por SEUX et al. (1991).

Relativamente à importância dos íons cálcio do hidróxido de cálcio, HEITHERSAY (1975) admite que tais íons possam reduzir a permeabilidade de novos capilares em tecido de granulação de dentes despolpados, diminuindo a quantidade de líquido intercelular. Para mais, esclarece que uma alta concentração de íons cálcio pode ativar a aceleração da pirofosfatase, membro do grupo das enzimas fosfatases, que também constitui função importante no processo de mineralização.

HOLLAND et al. (1982) avaliaram o efeito dos hidróxidos de cálcio, de bário e de estrôncio, após capeamento pulpar, valendo-se de análise histoquímica de polpas dentais de cão. Frente aos resultados obtidos, os autores salientam que as observações, nos grupos do hidróxido de bário e de estrôncio, foram similares as do hidróxido de cálcio, havendo deposição de granulações de carbonato de bário e estrôncio, semelhantes às granulações observadas com o hidróxido de cálcio. Em decorrência da inexistência de bário ou estrôncio naturalmente no organismo do animal, estas granulações originam-se do material de capeamento. Relatam, ainda, que as largas granulações birrefringentes não são observadas com outros hidróxidos, como o hidróxido de magnésio ou sódio, pelo fato da reação de precipitação somente ocorrer para hidróxidos com solubilidade similar à do hidróxido de cálcio. O hidróxido de magnésio é insolúvel e o de sódio é altamente solúvel nos fluidos pulpares. O hidróxido de bário é levemente mais solúvel que o de estrôncio, fato este que é observado pelas granulações de hidróxido de bário serem encontradas mais profundamente do que as do hidróxido de estrôncio.

PASHLEY et al. (1986), estudando o efeito do hidróxido de cálcio na permeabilidade dentinária, evidenciaram que ocorre aumento da concentração de íons cálcio, provenientes do hidróxido de cálcio, no interior dos túbulos dentinários e este bloqueio físico promove a redução da permeabilidade dentinária.

WAKABAYASHI et al. (1993), servindo-se da microscopia eletrônica de varredura e de um microanalisador de dispersão de energia de RX (EDX), avaliaram o mecanismo de calcificação distrófica induzida pelo hidróxido de cálcio no tecido conjuntivo da câmara auricular de coelho. As interações entre microvasos e o hidróxido de cálcio foram observadas imediatamente após a aplicação e, continuamente por 14 semanas. Os resultados revelaram, nas fases iniciais da reação tecidual, a formação de uma camada necrótica e calcificações vistas como

precipitação rápida de cristais por neutralização e seu pronto crescimento em uma barreira (calcificação distrófica). Observaram, ainda, que o cálcio e o fósforo adicionais depositaram-se diretamente sobre as partículas do precipitado. Ademais, constataram que os precipitados dos espécimes de 24 horas mostraram não somente um pico de cálcio como também fracos picos de fósforo, enxofre e / ou magnésio, nas porções fundidas entre os cristais e, sugerem que, tais precipitados teriam o potencial de induzir calcificação distrófica do tecido, o que está de acordo com os achados de HOLLAND et al. (1982).

ESTRELA et al. (1997) avaliaram a presença de carbonato de cálcio em diferentes amostras de carbonato de cálcio (Quimis, USA; PT Baker, USA; Calen, SSW, Brasil; Vigodent S.A., Brasil; Biodinâmica, Brasil; Merk, USA; Inodon, Brasil), determinado a partir do método de volumetria de neutralização, pelo uso de indicadores alaranjado de metila e fenolftaleína, titulado com ácido clorídrico ($0,0109 \text{ mol.L}^{-1}$). As amostras eram obtidas de diferentes procedências de clínicas privadas de especialistas em endodontia, que estavam sendo empregadas por período superior a 2 anos. Os resultados mostraram que nas amostras examinadas, o percentual de transformação do hidróxido de cálcio em carbonato de cálcio foi pequeno, variando de 5% a 11%, sendo que os melhores resultados foram os obtidos com as amostras da Quimis - 5% e da Pt Baker - 6%.

Por outro lado, a difusão dos íons hidroxila do hidróxido de cálcio confere atividade antibacteriana, sendo que, quando empregada com medicação intracanal, esta substância altera o metabolismo enzimático das bactérias, a partir da influência de um gradiente de pH existente na membrana citoplasmática.

Neste particular, diferentes trabalhos preocuparam-se com a difusão de íons hidroxila através da dentina (TRONSTAD et al., 1981; WANG & HUME, 1988; FUSS et al., 1989, 1996; NERWICH et al., 1993; FOSTER et al., 1993; ESTRELA et al., 1995; GOMES et al., 1996; REHMAN et al., 1996; ESTRELA et al., 1997).

TRONSTAD et al. (1981) analisaram a difusão de íons hidroxila do hidróxido de cálcio através dos túbulos dentinários e o possível aumento do pH nos tecidos. Vinte e sete dentes incisivos superiores e inferiores de macacos com rizogênese incompleta e completa foram utilizados. Em 12 dentes, um instrumento endodôntico foi introduzido por várias vezes no canal radicular até a área apical e os outros 15 dentes foram extraídos, mantidos secos por 1 hora e reimplantados. Decorridas 4 semanas quando a necrose pulpar havia ocorrido em todos os dentes,

os canais radiculares foram instrumentados e preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio e solução Ringer. Os grupos controle foram constituídos de 8 dentes que não receberam o tratamento do canal radicular e 5 dentes com polpas vitais. Extraíndo os dentes após diferentes períodos e determinando, por meio de indicadores de pH, o pH dos tecidos dentais após a colocação da pasta, verificaram que os dentes reimplantados e não reimplantados com formações radiculares completas e tratados com pasta de hidróxido de cálcio mostraram valores de pH na dentina próxima à polpa de 8,0 a 11,1 e, na dentina periférica de 7,4 a 9,6. Nos dentes com formações radiculares incompletas, toda dentina mostrou pH 8,0 a 10,0 e o cimento 6,4 a 7,0, ou seja, não influenciado pelo hidróxido de cálcio. Nas áreas de reabsorção nas superfícies dentinárias expostas, pH alcalino entre 8,0 e 10,0 foi observado. Os dentes não tratados e com necrose pulpar apresentaram pH 6,0 a 7,4 na polpa, dentina, cimento e ligamento periodontal. Frente aos resultados, concluíram os autores que a colocação de hidróxido de cálcio no canal radicular poderia influenciar as áreas de reabsorção, impossibilitando a atividade osteoclástica e estimulando o processo reparacional. A presença de íons cálcio é necessária para a atividade do sistema complemento na reação imunológica e a abundância de íons cálcio ativa a ATPase (Adenosina trifosfatase) cálcio dependente, à qual esta associada a formação de tecido duro.

NERWICH et al. (1993) estudaram as mudanças de pH na dentina radicular de dentes humanos extraídos, por período de tempo de 4 semanas, após a utilização do hidróxido de cálcio como medicação intracanal. Concluíram que esta substância requer de 1 a 7 dias para alcançar a dentina radicular externa e que, no terço cervical, manifestam-se valores mais altos de pH, quando comparado com o terço apical.

ESTRELA et al. (1995) analisaram *in vitro*, com auxílio de método colorimétrico e uso de solução indicadora universal, a difusão dentinária de íons hidroxila de pastas hidrossolúveis de hidróxido de cálcio, em atmosfera inerte de nitrogênio. Os autores observaram que em períodos de 7, 15, 30, 45 e 60 dias, poucas foram as modificações do pH na luz do canal radicular e na superfície externa do cimento. Nas pastas cujos veículos empregados foram soro fisiológico e o anestésico, o pH a 2mm do vértice apical e na superfície do cimento, aos 30 dias, estava em torno de 7 a 8, permanecendo inalterado até aos 60 dias. No grupo em que o veículo era o polietileno glicol 400, observou-se um pH de 7 a 8 no cimento apical, somente aos 45 dias, sendo que também em nada alterou aos 60 dias. Internamente, na luz do canal radicular, todas as pastas utilizadas apresentaram-se com um alto pH, por volta de 12,0 durante o período de observação.

ESTRELA & SYDNEY (1997) analisaram *in vitro* a influência do EDTA no pH da dentina radicular durante trocas de pasta de hidróxido de cálcio. Trinta incisivos centrais superiores de humanos foram preparados com técnica escalonada associada ao emprego de brocas de Gates-Glidden. O hipoclorito de sódio a 1% foi utilizado como solução irrigadora e após a secagem dos canais empregou-se EDTA durante 3 minutos. A seguir, os canais foram novamente irrigados com hipoclorito de sódio e completamente preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio, usando solução fisiológica como veículo. A análise da difusão dentinária de íons hidroxila foi realizada por meio de um método colorimétrico, utilizando solução indicadora universal. A análise foi feita em intervalos de 7, 15, 30, 45, 60 e 90 dias, sendo que após cada período, empregou-se EDTA por 3 minutos antes do completo preenchimento dos canais radiculares com pasta de hidróxido de cálcio. Os resultados mostraram mudanças no pH de 6-7 para 7-8 após 30 dias, permanecendo inalterado até 90 dias nos terços apical e médio. No terço cervical a mudança de pH foi de 6-7 para 7-8 após 30 dias, mantendo-se neste nível até 60 dias, e alterando-se de valores 7-8 para 8-9 até 90 dias. Não houve diferenças significativas entre os terços e os tempos analisados.

2.3 Mecanismo de Ação do Hidróxido de Cálcio

A partir do conhecimento das características da citologia bacteriana e da dinâmica química do hidróxido de cálcio, pode-se discutir o mecanismo de ação deste fármaco sobre as bactérias e os tecidos.

O fundamento básico para a seleção de qualquer medicação intracanal é o conhecimento do mecanismo de ação desta sobre os microrganismos predominantes nas infecções do canal radicular e lesão periapical. De modo geral, os antibióticos promovem dois tipos de efeitos sobre a bactéria, inibem o crescimento ou a reprodução, ou conduzem à morte. Estes efeitos são exercidos essencialmente por interferir na síntese da parede celular, alterar a permeabilidade da membrana citoplasmática, interferir na síntese proteica ou na replicação cromossômica. Nesta linha de pensamento, poderia se questionar em que localidade da bactéria o hidróxido de cálcio exerce seu efeito. Ao adotar como referência o conhecimento farmacológico do efeito do antibiótico sobre a bactéria, e mais especificamente o sítio de ação, o fenômeno do mecanismo de ação do hidróxido de cálcio como antimicrobiano poderia ser melhor elucidado. Por esta razão é

importante analisar isoladamente o efeito do pH sobre o crescimento, o metabolismo e a divisão celular bacteriana (ESTRELA et al., 1995).

A variação do pH reflete no crescimento bacteriano, uma vez que influencia a atividade enzimática. A velocidade das reações químicas favorecidas pelas enzimas é influenciada pelo substrato. Estas enzimas podem estar presentes tanto extra como intracelularmente. As enzimas extracelulares atuam sobre os nutrientes, carboidratos, proteínas e lipídeos, que por meio das hidrolases favorecem a digestão. As enzimas localizadas na membrana citoplasmática estão relacionadas com o transporte de substâncias para dentro e para fora da célula, com a atividade respiratória, e com a estruturação da parede celular. O transporte pela membrana é fundamental, pois, para suas complexas reações metabólicas, crescimento e reprodução, há necessidade do controle do fluxo de nutrientes (BAZIN & PROSSER, 1988; NEIDHART, 1990; NISENGARD & NEWMAN, 1994).

KODUKULA et al. (1988) relatam que em condições de elevado pH (baixa concentração de íons H^+), a atividade enzimática das bactérias é inibida. Aliado a este fato, cada enzima possui um pH ótimo para a sua ação, segundo o qual reage com uma velocidade máxima. O pH interno das bactérias é diferente do pH externo, sendo que, internamente, seu valor oscila em torno da neutralidade. Aliás, o mecanismo que mantém essa neutralidade ainda é desconhecido. Acrescido a este fato, a diferença do pH interior e exterior da célula pode determinar o mecanismo através do qual a atividade celular é influenciada pela concentração de íons hidrogênio.

Considera-se, todavia, a existência de um gradiente de pH através da membrana citoplasmática, que é responsável por produzir energia para o transporte de nutrientes e componentes orgânicos para o interior da célula. Este gradiente pode ser afetado pela mudança no pH do meio, influenciando o transporte químico através da membrana.

Neste particular, o efeito do pH sobre o transporte químico pode ser direto ou indireto. Será direto quando o pH influenciar a atividade específica das proteínas da membrana (combinação com grupo químico específico). O efeito indireto pode levar a alterações dos estados de ionização dos nutrientes orgânicos. Os componentes não ionizados são muito mais facilmente transportados através da membrana celular do que os ionizados. Desta forma, conforme o pH, pode haver aumento da disponibilidade de nutrientes, e um intenso transporte pode induzir inibição e efeitos tóxicos sobre a célula (KODUKULA et al., 1988).

O crescimento bacteriano em pH inferior ao seu pH interno faz com que o citoplasma fique mais alcalino do que o meio, no entanto, quando o crescimento ocorre em pH alto, seu citoplasma fica mais ácido (NEIDHART, 1990). O crescimento bacteriano em pH elevado pode levar a complicações fisiológicas muito complexas.

Importa enfatizar que a membrana citoplasmática relaciona-se a três funções essenciais: metabolismo, crescimento e divisão celular. Além do mais, participa dos últimos estágios da formação da parede celular, participa da biossíntese de lipídios, transporte de elétrons, como enzimas envolvidas no processo de fosforilação oxidativa. Por conseguinte, o transporte de nutrientes e o retorno de seus catabólitos através de sua membrana, deve ser naturalmente realizado.

No que diz respeito ao pH, existem poucas espécies que, em pH menor que 2 ou maior que 10, podem crescer. A maioria das bactérias patogênicas cresce melhor em meio neutro. Assim, de acordo com o pH ideal ao crescimento, estas bactérias podem ser classificadas em três categorias: acidófilas, neutrófilas e alcalófilas (NOLTE, 1982).

É possível haver uma inativação enzimática reversível (temporária), quando colocada em pH acima ou abaixo do ideal para seu funcionamento, uma vez que recolocada em pH ideal, a enzima pode tornar a adquirir sua atividade catalítica. Sua irreversibilidade pode ser observada em condições extremas de pH, por longos períodos de tempo, promovendo a total perda da atividade biológica.

Quase todas as duas mil enzimas já identificadas são proteínas globulares. Outras proteínas globulares funcionam como transportadoras de oxigênio, de nutrientes e de íons no sangue. Algumas são anticorpos, outras hormônios, e outras componentes das membranas e ribossomos. A estrutura terciária de uma proteína globular depende da sua sequência de aminoácidos, e vem, de alguns experimentos a demonstração que a desnaturação de algumas proteínas é reversível. Valores extremos de pH causam o desenrolamento da maioria das proteínas globulares e a perda de suas atividades biológicas sem romper ligações covalentes no esqueleto polipeptídico. Por vários anos, pensou-se ser irreversível o processo de desnaturação das proteínas. Entretanto, demonstrou-se que algumas proteínas globulares desnaturadas em decorrência do pH readquirem sua estrutura nativa e sua atividade biológica, desde que o pH retorne a valor normal, sendo este processo denominado renaturação (LEHNINGER, 1986).

Sabe-se, pois, que a configuração tridimensional nativa de uma dada proteína é sua configuração mais estável em condições biológicas de temperatura e pH, e que essa configuração é consequência automática de sua sequência específica de aminoácidos (AMABIS et al., 1976; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1991).

Várias proteínas presentes na superfície da membrana celular são especializadas no transporte de ácidos e bases pela membrana. A regulação de pH celular é fundamental, uma vez que mudanças de pH podem desregular e afetar o metabolismo celular, atuando na ionização de grupos de proteínas pela desconfiguração e alteração das suas atividades. O metabolismo celular, depende do pH para a atividade enzimática, altera o substrato e afeta o crescimento e a proliferação celular.

PUTNAM (1995) descrevendo a regulação de pH intracelular, relata que o pH influencia diferentes processos celulares, como: a) metabolismo celular; b) citoesqueleto, podendo alterar a forma, a motilidade, a regulação de transportadores, a polimerização de elementos; c) ativação de crescimento e proliferação celular; d) condutibilidade e transporte através da membrana; e) volume celular isosmótico. Desta forma, muitas funções celulares podem ser afetadas pelo pH, dentre estas as enzimas essenciais ao metabolismo celular.

O transporte químico na membrana celular pode ser alterado pela quantidade de íons hidroxila presentes, por um processo de peroxidação lipídica. A perda da integridade da membrana pode ser observada através da destruição de ácidos graxos insaturados ou fosfolipídios. Quando íons hidroxila removem átomos de hidrogênio de ácidos graxos insaturados, forma-se um radical lipídico livre que reage com o oxigênio molecular, transformando-se em outro radical peróxido lipídico. A peroxidação lipídica pode ser formada novamente a partir de um novo indutor, íons hidroxila, que roubam átomos de hidrogênio de um segundo ácido graxo insaturado, resultando em outro peróxido lipídico e outro novo radical lipídico livre, transformando em uma reação em cadeia (RUBIN & FARBER, 1990).

Frente a todo o raciocínio descrito de processos e atividades isoladas do pH em sítios enzimáticos essenciais, como acontece a nível de membrana, torna-se mais esclarecedor associar o hidróxido de cálcio, substância dotada de elevado pH, a feitos biológicos lesivos sobre a célula bacteriana para explicar seu mecanismo de ação. Com esta finalidade ESTRELA et al. (1994) estudaram o efeito biológico do pH na atividade enzimática de bactérias anaeróbias. Como a localização dos sítios enzimáticos é na membrana citoplasmática, e por esta ser responsável por

funções essenciais, como o metabolismo, crescimento e divisão celular, e participar dos últimos estágios da formação da parede celular, biossíntese de lipídios, transporte de elétrons, como enzimas envolvidas no processo de fosforilação oxidativa, os autores acreditam que os íons hidroxila do hidróxido de cálcio desenvolvem seu mecanismo de ação a nível da membrana citoplasmática. O efeito do elevado pH do hidróxido de cálcio (12.6), influenciado pela liberação de íons hidroxila, é capaz de alterar a integridade da membrana citoplasmática através de injúrias químicas aos componentes orgânicos e transporte de nutrientes, ou por meio da destruição de fosfolipídios ou ácidos graxos insaturados da membrana citoplasmática, observado pelo processo de peroxidação lipídica, sendo esta na realidade, uma reação de saponificação (ESTRELA et al., 1995).

A explicação do mecanismo de ação do pH do hidróxido de cálcio no controle da atividade enzimática bacteriana, permitiu que ESTRELA et al. (1994) levantassem a hipótese de uma inativação enzimática bacteriana irreversível, em condições extremas de pH, em longos períodos de tempo. E, também, uma inativação enzimática bacteriana temporária, quando do retorno do pH ideal à ação enzimática, havendo volta à sua atividade normal. A inativação enzimática irreversível foi demonstrada por ESTRELA et al. (1997) que determinaram *in vitro* o efeito antimicrobiano direto do hidróxido de cálcio sobre diferentes microrganismos (*Micrococcus luteus* (ATCC 9341); *Staphylococcus aureus* (ATCC6538); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586); *Escherichia coli* e *Streptococcus sp.*), durante intervalos de 0, 1, 2, 6, 12, 24, 48, 72 horas e 7 dias. A alteração da integridade da membrana citoplasmática dos microrganismos analisados, favorecendo suas destruições, tanto em culturas puras quanto em misturas, ocorreu no período de 72 horas. A inativação enzimática reversível pode ser observada em outra pesquisa realizada por ESTRELA et al. (1997), que avaliaram o efeito antimicrobiano indireto do hidróxido de cálcio em túbulos dentinários infectados por diferentes microrganismos, em intervalos de tempo de 0, 48, 72 horas e 7 dias. Os resultados mostraram que o hidróxido de cálcio foi inefetivo por ação à distância (ação indireta) no período de 7 dias, contra os microrganismos (*Streptococcus faecalis* (ATCC 29212); *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)).

Alem destas pesquisas que confirmam a hipótese levantada, ESTRELA et al. (1995,1997), estudando a difusão dentinária de íons hidroxila do hidróxido de cálcio, observaram que a mudança de pH na superfície da massa dentinária pode demorar.

A hidrossolubilidade ou não do veículo empregado (diferença de viscosidade), a característica ácido-base, a maior ou menor permeabilidade dentinária, o grau de calcificação presente podem influenciar a velocidade de difusão de íons hidroxila.

Outra forma de ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio foi demonstrada por SAFAVI & NICHOLS (1993, 1994) e BARTHEL et al. (1996). SAFAVI & NICHOLS (1993), estudando o efeito do hidróxido de cálcio sobre o lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano, demonstraram que os íons hidroxila podem hidrolisar o LPS presente na parede celular das bactérias, degradando o lipídio A e neutralizando seu efeito residual após a lise celular.

O lipopolissacarídeo é uma endotoxina encontrada nas bactérias Gram negativas. Além da ação demonstrada sobre o LPS, o hidróxido de cálcio inibe as enzimas da membrana citoplasmática tanto das bactérias Gram-negativas como Gram-positivas, independentemente do efeito do oxigênio sobre seu metabolismo, que as classificam em aeróbias, microaerófilas e anaeróbias.

Vários trabalhos demonstraram o efeito do hidróxido de cálcio sobre os diferentes tipos respiratórios das bactérias, quer aeróbias, microaerófilas e anaeróbias (HOLLAND et al., 1983; SMITH et al., 1984; BYSTROM et al., 1985; ALLARD et al., 1987; RANTA et al., 1988; QUACKEMBUSH, 1986; ESTRELA et al., 1994, 1995, 1996, 1997; SYDNEY, 1996).

Frente ao exposto, ESTRELA et al. (1994) reportaram que o hidróxido de cálcio apresenta duas expressivas propriedades enzimáticas, a de inibir enzimas bacterianas gerando efeito antimicrobiano e a de ativar enzimas teciduais, como a fosfatase alcalina, conduzindo ao efeito mineralizador.

A fosfatase alcalina é uma enzima hidrolítica (fosfo-hidrólise monoester ortofosfórica) que atua por meio da liberação de fosfato inorgânico dos estéres de fosfato (OSBORN & TEN CATE, 1988). Acredita-se na sua relação com o processo de mineralização (GRANSTROM & LINDE, 1972; GUIMARÃES & ALLE, 1974; GRANSTROM et al., 1978; GRANSTROM, 1982; MESSER et al., 1982).

O pH ótimo para a atuação da fosfatase alcalina varia de acordo com o tipo e a concentração de substrato, com a temperatura e com a fonte de enzima, sendo que os limites

estão por volta de um pH 8,6 a 10,3 (THOMPSON, 1966; MOURA, 1982; GREENWOOD ; EARNSHAW, 1984).

Esta enzima pode separar os ésteres fosfóricos de modo a liberar os íons fosfatos, que ficam livres, os quais reagem com os íons cálcio (provenientes da corrente sanguínea), para formar um precipitado na matriz orgânica, o fosfato de cálcio, que é a unidade molecular da hidroxiapatita (SELTZER & BENDER, 1979).

Neste contexto, o hidróxido de cálcio ativa a fosfatase alcalina a partir de seu elevado pH, o que pode iniciar ou favorecer a mineralização (MITCHELL & SHANKWALKER, 1958; TRONSTAD et al., 1981, TRONSTAD, 1991).

Atualmente não se questiona que o hidróxido de cálcio representa a medicação intracanal mais empregada, estudada e discutida, em decorrência, principalmente, de sua ação biológica e antimicrobiana.

Desde a introdução do hidróxido de cálcio na Odontologia por HERMAN em 1920, a ação biológica estabelecida por criar um ambiente favorável para a reparação tecidual, tem sido investigada por inúmeras pesquisas (MITCHELL & SHANKWALKER, 1958; EDA, 1961; HOLLAND, 1971, 1979, 1980, 1982, 1992; RASMUSSEN & MJOR, 1971; SOUZA et al., 1972, 1978; BINNIE & ROWE, 1973).

2.4 Características Antimicrobianas da Pasta de Hidróxido de Cálcio

A propriedade antimicrobiana do hidróxido de cálcio foi investigada por inúmeras pesquisas com diferentes metodologias. MATSUMIYA & KITAMURA (1960) em estudo histopatológico e histobacteriológico em dentes de cães, verificaram que o hidróxido de cálcio, como medicação intracanal, acelera a reparação natural de lesões periapicais, em função do desaparecimento progressivo de bactérias nos canais radiculares, a despeito da infecção existente no momento de sua aplicação.

FRANK (1966) apresentou resultados sobre a indução da rizogênese de dentes permanentes desvitalizados, empregando uma associação de hidróxido de cálcio e paramonoclorofenol canforado.

HEITHERSAY (1970) sugere o emprego de pasta de hidróxido de cálcio associada à metil celulose (Pulpdent) nos casos de rizogênese incompleta na presença de necrose pulpar,

reabsorções apicais, tratamento de grandes lesões periapicais, controle de exsudato periapical e tratamento endodôntico nas situações de necrose pulpar, por tratar-se de material altamente alcalino com pH de 12,5 .

CVEC (1972) atinge um índice de 96% de sucesso nos casos de apicificação com hidróxido de cálcio a longo prazo, salientando que seu pH alcalino e sua presença física dentro do canal radicular representam um potente efeito antibacteriano, inibindo atividade osteoclástica, prevenindo a entrada de tecido de granulação e exsudato, e propiciando a formação de tecido duro junto ao ápice radicular.

BINNIE & ROWE (1973) induziram infecção experimental em canais radiculares de dentes de cães, e após o preparo e obturação dos mesmos com pasta de Grossman, Calxyl ou pasta de hidróxido de cálcio associada água destilada, e observaram que este último material proporcionou resultados mais significativos. Houve ausência de inflamação moderada ou severa nos tecidos periapicais que estavam em contato direto com o hidróxido de cálcio, concluindo ser um material biológico para obturação de canais radiculares.

HEITHERSAY (1975), analisando o emprego do hidróxido de cálcio em dentes humanos com necrose pulpar, associados a patologia periapical, concluiu que seu emprego nas diversas situações clínicas simplifica o tratamento e colabora com o processo de reparação tecidual.

CVEC et al. (1976) avaliaram clínica, microbiológica e radiograficamente o efeito do tratamento endodôntico de 141 incisivos permanentes com rizogênese completa e incompleta, sem vitalidade pulpar, com ou sem alterações detectáveis radiograficamente. Todos os canais radiculares foram preenchidos com hidróxido de cálcio na mesma sessão, divididos em três grupos em função do emprego de diferentes substâncias químicas auxiliares da instrumentação: solução fisiológica (52 dentes), hipoclorito de sódio a 0.5% (53 dentes) e hipoclorito de sódio a 5% (36 dentes). Os resultados mostraram que as amostras bacteriológicas tomadas dos canais radiculares após o período de 3 meses, em 90% dos casos não houve crescimento bacteriano, independente do estado bacteriológico destes antes da obturação. Analisando os tipos de bactérias presentes nas amostras tomadas após o preparo do canal radicular e aquelas encontradas após 3 e 6 meses, concluíram haver razões para suspeitar que várias espécies eram produtos de contaminações, julgando desnecessário acrescentar qualquer outra substância ao hidróxido de cálcio com o objetivo de conferir-lhe propriedade antibacteriana mais acentuada.

FERREIRA et al. (1978) avaliaram in vitro e in vivo, o poder bacteriostático e bactericida da solução de hidróxido de cálcio, em concentrações de 5%, 10% e 20%, sobre culturas de *Streptococcus*, utilizado como curativo de demora nos canais radiculares. Os resultados mostraram que a solução de hidróxido de cálcio a 20%, proporcionou após 30 minutos resultados negativos em todos os testes colhidos, enquanto que em concentrações de 10%, os primeiros resultados negativos foram observados após 30 minutos e em 5% até o período de 30 minutos os testes bacteriológicos mostraram positivos. Estes resultados permitiram os autores deduzirem que a concentração de hidróxido de cálcio é inversamente proporcional ao tempo de contato com os microrganismos.

MARTINS et al. (1979) estudaram a ação antibacteriana da pasta aquosa de hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol aquoso a 1,0% e mistura de ambos. Realizaram-se colheitas microbiológicas com cones de papel absorvente, posterior a abertura coronária, preparo biomecânico e curativos de demora por 48 e 72 horas. Os canais radiculares do grupo 1 foram preenchidos com pasta aquosa de hidróxido de cálcio; no grupo 2, com a mistura de paramonoclorofenol aquoso a 1,0% associado ao hidróxido de cálcio, e no grupo 3, o paramonoclorofenol a 1,0% foi colocado em cones de papel absorvente e introduzido nos canais radiculares. Os resultados demonstraram, sem significância estatística, melhores respostas com a mistura pastosa de hidróxido de cálcio e paramonoclorofenol aquoso a 1,0%, seguidos da pasta de hidróxido de cálcio e por último do paramonoclorofenol aquoso a 1,0%.

ANTHONY et al. (1982) avaliaram o pH da pasta de hidróxido de cálcio produzido pela associação com três veículos (cresatina, paramonoclorofenol canforado e solução fisiológica). Quantidades iguais de hidróxido de cálcio foram misturados com os três veículos e colocados em recipientes separados contendo 20 ml de solução fisiológica com pH determinado. Volumes iguais de paramonoclorofenol canforado, cresatina e solução fisiológica foram colocados em recipientes separados contendo 20 ml de solução fisiológica. Um recipiente de 20 ml de solução fisiológica foi colocado pó do hidróxido de cálcio em quantidade suficiente para saturar a solução. Determinou-se o pH do hidróxido de cálcio sem a influência dos veículos. O pH de todas as soluções foi registrado em intervalos de 6, 24, 48, 72 horas, 1 e 2 semanas. Os resultados mostraram que o pH das misturas com paramonoclorofenol canforado e solução fisiológica foram similares, mas que com cresatina foi muito menor, caindo em função do tempo, sendo que

nenhuma das pastas produziu pH maior que 9,6 . Os autores concluíram que a melhor escolha seria a mistura do hidróxido de cálcio com solução fisiológica como pasta obturadora temporária.

HOLLAND et al. (1983), analisando a influência da reabsorção óssea relacionado com o sucesso do tratamento endodôntico, postularam que o efeito do hidróxido de cálcio como medicação intracanal em dentes portadores de lesões periapicais, pode encorajar a reparação tecidual e favorecer a obturação convencional do canal radicular.

DI FIORE et al. (1983) testaram o efeito antibacteriano de pastas de hidróxido de cálcio com quatro diferentes veículos: paramonoclorofenol canforado, acetato de metacresila, metil celulose e água. Culturas de *Streptococcus sanguis* foram reconstituídas em laboratório e colocadas em placas de ágar sangue. Cinco cilindros com 10 mm de comprimento por 8 mm de diâmetro foram colocados nas placas e receberam as pastas com os diferentes veículos, e selados com Cavit, sendo que o cilindro controle recebeu apenas esse último material. As placas foram incubadas anaerobicamente e os halos de inibição medidos nos intervalos de 2, 4, 6 e 8 dias. Os resultados mostraram que as pastas de hidróxido de cálcio com água destilada e Pulpdent não evidenciaram halos de inibição. Tal fato apenas foi observado nas pastas com paramonoclorofenol canforado e acetato de metacresila, os quais diminuíram com o tempo. Os autores esclarecem que o tamanho do halo de inibição de crescimento bacteriano não reflete seu poder antibacteriano, uma vez que este tamanho pode sofrer influência do tamanho da molécula da substância e de sua constante de difusão, podendo se difundir adequadamente no meio de cultura utilizado.

STEVENS & GROSSMAN (1983) analisaram a efetividade antimicrobiana de solução de hidróxido de cálcio, obtida da adição de pó a 30 ml de água estéril, centrifugada, onde utilizaram o sobrenadante, com pH de 12,2 . Doze dentes caninos de três gatos adultos foram utilizados. Após a remoção do tecido pulpar, seus canais foram inoculados com *Streptococcus faecalis*, instrumentados e tratados com hidróxido de cálcio (4 dentes), clorofenol canforado (3 dentes), Pulpdent (2 dentes), servindo-se de controle 3 dentes que não receberam medicação. Amostras bacterianas foram tomadas em 5 sessões de tratamento, realizadas no período de 3 semanas. Duas coletas foram realizadas de cada canal a cada consulta, sendo a primeira removendo a ponta de papel absorvente estéril que era deixada dentro do canal junto com o medicamento, e transferindo-a para o meio apropriado, e, a segunda, após irrigação com solução fisiológica e remoção do medicamento com auxílio de instrumento e quando necessário, introduzindo pontas

de papel absorvente estéreis no canal úmido. Os resultados microbiológicos mostraram que a solução de hidróxido de cálcio foi inefetiva na eliminação do *Streptococcus faecalis*. Ao testarem estes medicamentos em placas de ágar sangue inoculadas com o mesmo microrganismo, verificaram que a solução de hidróxido de cálcio e o Pulpdent produziram pequeno, mas mensurável halo de inibição e que o clorofenol canforado foi o mais efetivo.

OLETO & MELO (1984) em estudo clínico e microbiológico em dentes humanos com necrose pulpar, avaliaram o uso do hipoclorito de sódio e do hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol em solução aquosa a 2%. Selecionaram-se 41 dentes unirradiculares, sendo que 27 destes com lesão periapical. Os resultados mostraram-se muito significativos, para a eliminação dos microrganismos frente ao emprego do hipoclorito de sódio a 2,6% com a pasta de hidróxido de cálcio acrescido de paramonoclorofenol em solução aquosa a 2%.

BYSTRÖM et al. (1985) avaliaram através de métodos bacteriológicos o efeito do paramonoclorofenol canforado, fenol canforado e do hidróxido de cálcio no tratamento de canais infectados. Sessenta e cinco dentes humanos unirradiculares portadores de necrose pulpar e evidência radiográfica de lesão periapical foram selecionados. Em 20 canais radiculares, a substância química empregada durante preparo do canal foi o hipoclorito de sódio a 0,5% e em 15 canais, solução de hipoclorito de sódio a 5%. Os canais foram secos com cones de papel absorvente e preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio (Calasepet). Os demais 30 dentes foram irrigados com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e desses, 15 dentes receberam medicação intracanal de paramonoclorofenol canforado e outros 15 de fenol canforado e a cavidade de acesso selada. Amostras bacterianas foram tomadas após o preparo do canal radicular através de cones de papel absorvente e transferidos para um tubo contendo o meio PYG (peptone yeast glucose). Decorrido 1 mês, para os canais com hidróxido de cálcio e 2 semanas mais tarde para aqueles contendo os dois outros medicamentos, os canais radiculares foram irrigados com solução salina e realizada a coleta das amostras. Após secagem as cavidades de acesso foram seladas com cimento de óxido de zinco com espessura superior a 3mm. Em 5 dentes medicados com o hidróxido de cálcio, os canais foram tratados com solução de EDTA por 10 minutos antes do selamento. Dois a quatro dias depois, nova coleta foi realizada nos moldes descritos anteriormente. Todas as amostras foram cultivadas sob condições de anareobiose e o número de bactérias determinado. Os resultados mostraram que nos casos em que o hidróxido de cálcio foi a medicação empregada, bactérias foram encontradas em um dos 35 canais e que nos

dois outros medicamentos bactérias foram observadas em 10 dos 30 canais tratados. As bactérias isoladas foram predominantemente Gram-positivas e anaeróbias. Não houve indicação da presença de bactérias específicas, resistente ao tratamento. Após a identificação e qualificação dos microrganismos, espécimes foram colocadas em contato com uma solução saturada de hidróxido de cálcio, cujo tempo requerido para matar as bactérias está expresso na tabela 1. Os autores concluíram que a pasta de hidróxido de cálcio tem acentuado efeito antibacteriano quando comparada com o fenol canforado e o paramonoclorofenol canforado, admitindo que a quantidade de hidróxido de cálcio que pode ser colocada no canal radicular é suficientemente grande para liberar íons hidroxila por um longo período de tempo, explicando sua alta eficiência antibacteriana.

Tabela 3. Tempo requerido para matar 99,9% de células bacterianas em contato com uma solução saturada de hidróxido de cálcio.

< 1 minuto	1-3 minutos	3-6 minutos	> 6 minutos
<i>Streptococcus sanguis</i> <i>Streptococcus salivarius</i> <i>Streptococcus milleri</i> <i>Streptococcus mitis</i> <i>Streptococcus intermedius</i> <i>Peptostreptococcus Anaerobius</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium dentium</i> <i>Bacteroides melaninigenicus</i> <i>Fusotarium nucleatum</i> <i>Selenomonas sputigena</i> <i>Campylobacter fetus</i> <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> <i>Capnocytophaga ochracea</i> <i>Wolinella recta</i>	<i>Streptococcus mutans</i> <i>Streptococcus morbilorum</i> <i>Lactobacilos casei var. rhamnosus</i> <i>Actinomyces israelii</i> <i>Actinomyces naeslundii</i> <i>Actinomyces odontolyticus</i> <i>Actinomyces viscosus</i> <i>Veillonella párvula</i>	<i>Arachnia propionica</i> <i>Eubacterium alactolyticum</i> <i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>

GORDON et al. (1985) analisaram o efeito do hidróxido de cálcio, quanto às variações de pH e concentração de cálcio, em tecido pulpar bovino. Asseguram os autores que o hidróxido de cálcio contribui para o sucesso, estimulando a reparação, graças ao seu alto pH e concentração de íons cálcio. A polpa bovina foi tratada com soluções de diferentes pH e concentrações variáveis de hidróxido de cálcio ou hidróxido de bário saturado, onde se examinou a atividade enzimática e a desnaturação proteica. As polpas foram homogeneizadas e centrifugadas, e o resíduo sobrenadante foi analisado a partir da atividade da fosfatase alcalina e a desidrogenase láctica. Ambas atividades enzimáticas foram ligeiramente diminuídas por soluções de cálcio de menor pH e completamente destruídas por hidróxido de cálcio e hidróxido de bário saturados. A eletroforese em lâmina de gel da proteína das polpas tratadas demonstrou que o hidróxido de

cálcio saturado não altera seu padrão quando se compara com o controle, enquanto que o hidróxido de bário saturado modifica consideravelmente. Quando a concentração de hidróxido de bário reduziu a molaridade do hidróxido de cálcio saturado, os padrões eletroforéticos das proteínas das polpas tratadas foram similares. Os autores acreditam que a eficácia do hidróxido de cálcio pode ser o resultado de sua baixa solubilidade, e portanto, toxicidade, quando se comparam com soluções alcalinas bivalentes, como o hidróxido de bário. Salientam ainda que o mesmo apresenta ação bactericida não específica no interior do canal, e que seu efeito depende exclusivamente de seu pH, e como agente antibacteriano atua sem o suporte dos mecanismos teciduais de defesa.

SAFAVI et al. (1985) compararam o efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio, com o iodo-iodeto de potássio em 1030 dentes humanos. Após o preparo do canal radicular com o hipoclorito de sódio a 1% , empregou-se o tiussulfato de sódio a 5% para neutralizar o hipoclorito de sódio, sendo posteriormente, removido através de irrigação com solução fisiológica salina e secos com cones de papel absorvente. Para a coleta microbiológica, os canais radiculares foram preenchidos com solução fisiológica salina esterelizada e suas paredes instrumentadas com lima de diâmetro apropriado, sendo o conteúdo absorvido com cones de papel e transferidos para tubos de cultura com meio de tioglicolato para anaeróbios e enviados para processamento microbiológico. Em 340 dentes a medicação foi uma mecha de algodão umedecida com iodo-iodeto de potássio a 2%; em 517 dentes pasta de hidróxido de cálcio tendo como veículo o soro fisiológico foi empregado e 173 dentes ficaram sem nenhum tipo de medicamento (grupo controle). Quando após 7 dias de incubação no processamento microbiológico as culturas apresentavam resultado positivo, esses dentes eram reinstrumentados, nova coleta era realizada e a mesma medicação utilizada, sucessivamente até que resultados negativos fossem obtidos. Os resultados obtidos demonstraram menor número de culturas positivas quando o hidróxido de cálcio foi utilizado, atingindo 77,4% de culturas negativas, 66,1% para o iodo iodeto de potássio e 63,6% para o grupo sem medicação. Essa diferença de frequência foi estatisticamente significativa.

LOPES et al. (1986) relataram que os veículos mais aceitos e indicados para o hidróxido de cálcio são os não oleosos, decorrente da necessidade da liberação dos íons hidroxila e cálcio, imprescindíveis ao seu mecanismo de ação. Os autores propuseram uma pasta composta de hidróxido de cálcio pró-análise, carbonato de bismuto e colofônia, sendo o azeite de oliva empregado como veículo. Foi observado sucesso clínico e radiográfico em situações de extensas

lesões periapicais, reimplantes, perfurações radiculares, dentes com rizogênese incompleta, fraturas radiculares e reabsorção radicular. Os autores puderam concluir que o azeite de oliva conferia à pasta uma dissociação lenta de íons hidroxila e de íons cálcio, favorecendo o mecanismo de reparo e diminuindo o número de trocas da pasta de hidróxido de cálcio.

QUACKENBUSH (1986) verificou a ação do monoclórofenol, iodo-iodeto de potássio e do hidróxido de cálcio contra bactérias anaeróbias, *in vitro*. Os resultados obtidos afirmam que o hidróxido de cálcio foi mais efetivo contra bactérias anaeróbias estritas (*Peptostreptococcus sp*) e anaeróbias facultativas (*Streptococcus sanguis*), enquanto os outros dois medicamentos não foram efetivos contra as bactérias anaeróbias.

ALLARD et al. (1987) estudaram a reparação de lesões periapicais em dentes de cães, tratados com pasta de hidróxido de cálcio acrescida de contraste radiográfico. O objetivo foi avaliar a possível interferência deste, no processo reparacional de lesões periapicais. Raízes de pré-molares de cães com 1 ano de idade foram utilizadas, nos quais lesões periapicais experimentais foram induzidas, após pulpotomia pela inoculação de cultura de *Streptococcus faecalis*. Seis meses após a inoculação, amostras bacteriológicas foram tomadas dos canais radiculares, que a seguir foram preparados, irrigados e tiveram nova coleta realizada ao término dessa etapa. Vinte e dois canais radiculares foram obturados com gutapercha umedecida com resina cloroformada, 12 canais preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio (Calasept) e 12 preenchidos com partes iguais de Calasept e contraste radiográfico (Dionosil). Exames radiográficos mensais foram realizados durante 4 meses, quando os animais foram sacrificados, as peças removidas e submetidas a processamento histológico. Os resultados mostraram que todas as lesões periapicais repararam total ou parcialmente, e que nenhuma diferença foi observada no padrão de reparo das lesões periapicais entre os canais obturados com gutapercha e aqueles preenchidos de hidróxido de cálcio, provavelmente, pela discutível atividade antimicrobiana da gutapercha, causada pela liberação de íons zinco e pelo também discutível efeito antimicrobiano da resina cloroformada. Mesmo que algumas amostras tomadas imediatamente antes da obturação mostrassem resultado positivo, redução significativa no número de microrganismos presentes havia ocorrido.

BYSTRON et al. (1987) avaliaram a eficácia do tratamento endodôntico de dentes despolpados analisando o reparo de lesões periapicais com monitoração de todos os passos por avançada técnica anaeróbia. Das 79 lesões, cujos diâmetros variaram entre 1 e 2 mm, 67

repararam completamente. Na maioria dos casos o tamanho das lesões diminuíram em 2mm dentro de 2 anos, independente do tamanho inicial, mas em 7 casos não houve o reparo completo nesse período. Apenas 5 lesões mostraram pequena ou nenhuma diminuição no tamanho e foram submetidas a intervenção cirúrgica. As lesões remanescentes não reparadas, argumentam os autores, eram decorrentes do estabelecimento de infecção extra-radicular.

BARBOSA & ALMEIDA (1987) testaram *in vitro* a ação antimicrobiana da solução aquosa de hidróxido de cálcio pura e em associação com detergente, em concentrações variadas na presença de microrganismos encontrados nos canais radiculares infectados, como: *S. faecalis*, *S. aureus*, *S. sanguis*, *B. subtilis*, *S. mutans*, *C. albicans*, *S. salivarius*, *Neisseria sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Difteróides*, *S. epidermidis*. Frente aos resultados pode-se concluir que a associação da solução de hidróxido de cálcio mais 10% de detergente (HCT 10) mostrou-se eficaz contra os microrganismos analisados, porém, foram necessários 30 minutos para que o *S. sanguis*, o *Difteróides* e o *S. aureus* chegassem ao êxito letal. Na associação a 20% (HCT 20), o único microrganismo que sobreviveu além de 10 minutos foi o *Difteróides*, enquanto que as bactérias mais resistentes como o *S. aureus*, não sobreviveram após 5 minutos.

RANTA et al. (1988) relataram o sucesso obtido na eliminação de *Pseudomonas aeruginosa* presente em infecção no canal radicular de dente humano, refratário ao tratamento endodôntico, com persistência de exsudato após várias sessões de preparo dos canais radiculares e emprego de diferentes soluções irrigadoras. Realizado o isolamento absoluto, assepsia do campo operatório e acesso, o canal foi irrigado com soro fisiológico e amostras bacteriológicas obtida através de cones de papel absorvente e inoculada em placa de ágar sangue. A *Pseudomonas aeruginosa* foi isolada em placas que cresceram em aerobiose e em 5% de CO₂ em cultura pura. As placas em anaerobiose não mostraram crescimento. O canal foi preparado até o instrumento 80, irrigado com etanol 70% por alguns minutos, seguido de irrigação com soro fisiológico, secagem e preenchimento com pasta à base de hidróxido de cálcio e a abertura coronária selada com Cavit. Nos períodos compreendidos entre 6, 10 e 30 dias, o canal era irrigado novamente com soro fisiológico, as paredes instrumentadas com lima 80 e nova coleta microbiológica obtida, permanecendo o hidróxido de cálcio como curativo intracanal. Nenhuma das amostras revelou crescimento bacteriano com os sintomas desaparecendo logo após a primeira sessão de curativo intracanal. Uma vez obturado, radiografias de controle foram

tomadas 1 e 3 anos após, permanecendo o dente assintomático e nenhuma alteração foi observada.

HASSELGREN et al. (1988) utilizaram 70 peças de tecido muscular de suínos, medindo 2 x 1 x 1 mm, com o intuito de avaliar, in vitro, os efeitos separados e combinados do hidróxido de cálcio e da solução de hipoclorito de sódio a 0,5% na dissolução de tecido necrótico. As peças foram usadas em grupos de 10 cada, de modo que, no grupo 1, as peças eram armazenadas em 20 ml de pasta de hidróxido de cálcio e água; nos grupos 2 e 3, armazenados em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, sendo que, no grupo 2, a mesma solução foi mantida e, no 3, a solução era renovada a cada 30 minutos até a completa dissolução da peça; nos grupos 4, 5 e 6, as peças foram colocadas em 20 ml de pasta com hidróxido de cálcio e água e, após 30 minutos no grupo 4, 24 horas no grupo 5 e 7 dias no grupo 6, eram transferidas para uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5%; no grupo 7, foram armazenadas em 20 ml de solução isotônica. Todas as peças foram secas em papel filtro e pesadas após 30, 60 e 90 minutos, 10 e 24 horas. Completando esse tempo, o experimento prosseguiu por mais 12 dias até que todo o tecido fosse dissolvido. Observaram, os autores, que a ação dissolvente de tecido do hidróxido de cálcio é semelhante à do hipoclorito de sódio, porém, menos intensa e que a presença prolongada do hidróxido de cálcio no canal radicular, onde desempenha um efeito terapêutico contínuo, pode amplamente compensar esse fato. Observaram também que o efeito dissolvente do hipoclorito de sódio a 0,5% foi aumentado pelo pré-tratamento com o hidróxido de cálcio.

HAAPASALO (1989) observou a ocorrência, o papel e taxonomia das espécies de *Bacteróides* em infecções de canais radiculares infectados de dentes humanos, para o efeito sistêmico da penicilina V. Em sessenta e dois dentes unirradiculares com lesão periapical, foram coletados microrganismos antes e após o preenchimento de canal radicular com hidróxido de cálcio. Os resultados mostraram que as infecções eram mistas, exceto uma, com frequência de anaeróbios e em apenas 4 casos anaeróbios facultativas. A presença do *Bacteróides gingivalis*, *Bacteróides endodontalis* e *Bacteróides buccae* estavam mais frequentemente relacionados com os casos agudos do que outras espécies de *Bacteróides*. *Bacteróides* pigmentados de preto pareciam aumentar a probabilidade de sintomas, e persistiram por mais de uma semana do início do tratamento. Entretanto, após 4 semanas quando a obturação foi realizada, todos os pacientes estavam livres de qualquer sintoma, o que indicou interferência da composição inicial da flora mista. A eficácia do hidróxido de cálcio foi comprovada através de amostras bacteriológicas

tomadas após 1 semana de sua permanência no canal radicular. A grande maioria dos *Bacteróides* foi sensível à penicilina, com apenas duas cepas de *Bacteróides buccae* e *Bacteróides denticola* resistentes, porém não houve diferença entre os grupos tratados com penicilina e não, na reparação após 1 ano, fato que sugere ser desnecessário o uso de antibiótico no início do tratamento, mas importante nos casos de persistência de infecção. Após o período de 1 ano, 15 casos mostraram reparação completa, 11 casos reparação parcial e em apenas 1 caso não houve sinais de reparação.

ORSTAVIK & HAAPASALO (1990) analisaram o efeito antibacteriano de soluções irrigadoras e medicações intracanaís, empregando dentina bovina, infectadas com *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli* ou *Pseudomonas aeruginosa*. Blocos cilíndricos de dentina bovina foram obtidas de incisivos recém-extraídos, tendo os resíduos orgânicos e inorgânicos removidos por tratamento ultra-sônico com EDTA e hipoclorito de sódio a 5.25%. As peças de dentina foram infectadas por períodos que variaram de 3 a 6 semanas. Os medicamentos endodônticos utilizados na desinfecção de dentina foram: hidróxido de cálcio (Calasept), Paramonoclorofenol canforado, gluconato de clorexedina (Hibitane), iodo-iodeto de potássio, hipoclorito de sódio e EDTA. Após a aplicação dos medicamentos, os espécimes de dentina foram incubados a 37 graus Célsius por 5 minutos durante 7 dias. Os tubos que não apresentaram crescimento bacteriano foram reinoculados e incubados por outros 7 dias. A eficácia dos vários medicamentos teve uma grande variação, de acordo com a espécie bacteriana estudada. Considerando que a capacidade de infectar os túbulos dentinários variou de acordo com os microrganismos, os resultados mostraram que o paramonoclorofenol canforado foi, de modo geral, mais eficiente que o hidróxido de cálcio (Calasept). Dentre as soluções irrigadoras testadas, o iodo-iodeto de potássio mostrou mais eficiente que o hipoclorito de sódio e a clorexedina. O EDTA praticamente não apresentou ação antibacteriana. A presença de “smear layer” diminuiu, mas não eliminou a ação dos medicamentos testados.

FERRAREZI & ITO (1990) analisaram a concentração inibitória mínima da pasta de hidróxido de cálcio, do PMCC e da associação de ambos sobre os microrganismos isolados de canais radiculares: *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *C. krusei*, *Streptococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Actinomyces viscosus*. A ação antibacteriana contra todos microrganismos foi obtida com o paramonoclorofenol e paramonoclorofenol canforado. Alguns microrganismos aeróbios demonstraram resistência ao hidróxido de cálcio puro, entretanto

associado ao PMCC apresentou efetividade antibacteriana acentuada diante da *Prevotella intermédia* e *Actinomyces viscosus* com concentração bactericida mínima e a inibitória mínima ficou entre 500 e 1000 mg/ml, enquanto para os aeróbios as concentrações variaram entre 1000 e 4000 mg/ml.

STUART et al. (1990) compararam a efetividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio com o paramonoclorofenol canforado e o formocresol em 90 dentes humanos instrumentados até a lima de número 50 e inoculados com o *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* e *Bacteróides gingivalis* ou *Bacteróides fragilis*. Posterior ao uso dos medicamentos, os dentes foram selados e incubados pelo período de 1 hora, quando então, o conteúdo dos canais foram removidos e avaliados quanto ao número de microrganismos viáveis e comparados com dentes inoculados que não receberam a medicação. Os resultados demonstraram que todos medicamentos exibiram atividade antimicrobiana contra bactérias inoculadas, apresentando percentuais redutores entre 64,3% e 100%. O Pulpdent e a pasta de hidróxido de cálcio com soro fisiológico demonstraram maior efetividade contra o *Streptococcus mutans* e os *Bacteróides* de que o PMCC e o formocresol.

SJOGREN et al. (1991) avaliaram o efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio em 10 minutos e 7 dias. Para tanto valeram-se de 30 dentes humanos unirradiculares com polpas necrosadas e lesão periapical, que após a instrumentação, irrigação com hipoclorito de sódio a 0,5%, e a secagem, foram preenchidos com pastas de hidróxido de cálcio. Em 12 canais radiculares a medicação foi deixada no canal por um período de 10 minutos e em 18 canais por 7 dias. Amostras microbiológicas foram tomadas dos canais radiculares de modo a permitir que pontas de papel absorventes fossem introduzidas até 1 mm aquém do vértice radiográfico. Posterior a aplicação do hidróxido de cálcio nos dois períodos, e sua remoção, uma terceira amostra foi obtida. Após o processamento microbiológico, a análise dos resultados mostrou que bactérias estavam presentes em todas as 30 amostras iniciais. Após o preparo, bactérias ocorriam em 6 dos 12 canais que iriam receber a medicação de hidróxido de cálcio por 10 minutos, e em 9 dos 18 canais em que o medicamento permaneceria por 7 dias. Nestes 18 canais nenhuma bactéria foi isolada nas amostras tomadas imediatamente após a remoção do hidróxido de cálcio, nem nas amostras finais, 5 semanas mais tarde, onde permaneceram sem o medicamento. Nos 12 dentes onde a medicação foi colocada por 10 minutos, as bactérias persistiram em 6 canais radiculares, sendo que todas as cepas identificadas estavam presentes nas amostras iniciais,

exceto em 1 caso. A aplicação do hidróxido de cálcio por 10 minutos mostrou ser ineficiente, enquanto que por 7 dias, as bactérias não sobreviveram em 2 casos e no terceiro, eliminada após o curativo.

ORSTAVIK et al. (1991) avaliaram o efeito da instrumentação excessiva combinada com a medicação intracanal com hidróxido de cálcio. Os autores valeram-se de 23 dentes humanos com lesão periapical, sendo que após o preparo convencional e instrumentação excessiva, foram medicados com hidróxido de cálcio por 7 dias. Amostras para exame bacteriológico foram coletadas na primeira sessão antes do preparo, e na segunda após a remoção do hidróxido de cálcio, e nova instrumentação. Os resultados evidenciaram amostras positivas em 14 dos 23 dentes, na primeira e 8 dos 23 dentes crescimento detectável (infecção residual), no final da segunda, e que somente 1 caso, as bactérias puderam ser quantificadas. Acrescentam ainda que o hidróxido de cálcio, usado como medicação intracanal por uma semana após excessiva instrumentação, reduz significativamente o crescimento bacteriano do canal radicular.

GENCIGLU & KULEKCI (1992) avaliaram in vitro o potencial antibacteriano do hidróxido de cálcio (Calasept), PMCC, Cresophene e iodo iodetado de potássio a 2%, sobre o *Streptococcus mutans*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*, no período de 10 ou 15 minutos. Os resultados mostraram que a solução iodo iodetado de potássio foi eficiente apenas contra o *F. nucleatum* e a *P. gingivalis*. Os demais medicamentos foram efetivos em todas as espécies bacterianas em estudo.

GEORGOPOULOU et al. (1993) estudaram comparativamente, in vitro, a efetividade do hidróxido de cálcio e do paramonoclorofenol (PMCF) sobre bactérias anaeróbias. Foram isolados e identificados um total de 30 microrganismos de canais infectados de dentes humanos. Das 30 espécies isoladas, 12 eram cocos e 18 bastonetes. A resistência ao PMCF dos anaeróbios em 5 minutos foi de 93,3%, aos 15 minutos 60%, aos 30 minutos 3,3%, enquanto que aos 60 minutos, nenhum microrganismo foi identificado. De outra parte, a resistência do hidróxido de cálcio foi de 30% aos 5 minutos, 6,6% aos 15 minutos, ao passo que aos 30 e 60 minutos nenhum microrganismo foi identificado. Os resultados mostraram diferenças expressivas entre os dois medicamentos no tempo de 5 minutos, enquanto que aos 30 e 60 minutos não houveram diferenças significativas. Analisando os resultados frente aos cocos, a resistência ao PMCF aos 5 minutos foi de 91,6%, aos 15 minutos 50%, aos 30 minutos 8,35% e zero aos 60 minutos. Quanto ao hidróxido de cálcio, aos 5 minutos foi de 41,6% e nos intervalos seguintes nenhuma

resistência foi observada. Aos 5 e 15 minutos, o hidróxido de cálcio estatisticamente mostrou-se mais efetivo contra os cocos do que o PMCF, e aos 30 e 60 minutos não houve diferença significativa. Frente a ação contra os bastonetes, o PMCF mostrou resultados de 94,4% aos 5 minutos, 58,8% aos 15 minutos, 11,7% aos 30 minutos e aos 60 minutos nenhum crescimento. O hidróxido de cálcio mostrou um índice de 76,4% aos 5 minutos, 11,7% aos 15 minutos e nenhuma resistência nos demais tempos. Apenas no intervalo de 15 minutos houve diferença estatística significativa. Na ação contra as bactérias Gram positivas, o PMCF apresentou nos tempos estudados os valores de 92,8%, 57,1%, 21,4% respectivamente, com nenhuma bactéria sobrevivendo aos 60 minutos. Os valores obtidos com o hidróxido de cálcio nos dois primeiros tempos foram de 64,3% e 7,1%, sendo que em 15 minutos esta medicação foi significativamente mais efetiva. Não se observou nenhuma diferença nos demais tempos. Em relação as bactérias Gram negativas, a resistência ocorreu apenas nos tempos de 5 e 15 minutos para o PMCF, com índices de 93,75% e 43,7%, sendo que para o hidróxido de cálcio apenas no tempo de 5 minutos tal fato foi encontrado com valores de 62,59%. Apenas nos dois primeiros intervalos houveram diferenças estatisticamente significantes. Os resultados sugerem uma maior efetividade do hidróxido de cálcio contra a flora anaeróbia do canal radicular do que o PMCF.

SAFAVI & NICHOLS (1993) analisaram o efeito do hidróxido de cálcio sobre o lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano após a lise de bactérias de canais radiculares infectados. Amostras de LPS tratadas com hidróxido de cálcio permitiram a quantificação de hidroxilas livres de ácidos gordurosos. O tratamento conduziu à liberação de elevadas quantidades de hidroxilas de ácidos gordurosos. O hidróxido de cálcio hidrolizou a porção lípide do LPS bacteriano, resultando na liberação das hidroxilas livres dos ácidos gordurosos. A degradação do LPS bacteriano mediada pelo hidróxido de cálcio pode ser um fator benéfico importante para seu emprego em Endodontia.

ASSED (1993) estudou a prevalência de microrganismos em canais radiculares de dentes com necrose pulpar e reação periapical crônica, e o efeito do preparo biomecânico e do curativo de demora através de imunofluorescência indireta e cultura. As amostras obtidas antes do tratamento submetidas à reação de imunofluorescência indireta foram positivas para 24 das 25 amostras, com prevalência de 56% para a espécie *Actinomyces viscosus*, 48% para *Prevotella intermédia*, 40% para o *Fusobacterium nucleatum* e 16% para a *Porphyromonas gingivalis*. O preparo biomecânico resultou em 43,8% de culturas negativas para os anaeróbios. A ação

cumulativa do preparo biomecânico dos canais radiculares e do curativo de demora sobre os anaeróbios foi de 57,1% de culturas negativas.

HOLLAND et al. (1993) avaliaram o efeito de curativos de demora hidrossolúveis e não hidrossolúveis no processo de reparo de dentes de cães com lesão periapical. Os curativos de demora utilizados foram o hidróxido de cálcio associado ao soro fisiológico e o hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado (pasta de Frank). Decorridos seis meses da obturação dos canais radiculares, observaram maiores índices de reparação quando do emprego do curativo de demora com a pasta aquosa contendo soro fisiológico.

ESTRELA et al. (1994) estudaram o efeito biológico do pH na atividade enzimática de bactérias anaeróbias. A análise de uma variedade de fatores isolados correlacionando pH e as atividades de enzimas bacterianas e teciduais, permitiu levantar a hipótese de que o hidróxido de cálcio poderia inativar as enzimas bacterianas de modo irreversível ou definitivo, quando em condições extremas de pH em longos períodos de tempo. E também uma inativação enzimática reversível ou temporária, quando do retorno do pH ideal à ação enzimática, haveria volta à sua atividade normal. Estes fatores proporcionaram aos autores acreditarem que na realidade o hidróxido de cálcio apresenta duas grandes propriedades enzimáticas: a de inibir as enzimas bacterianas, levando ao efeito antibacteriano, e a de ativar as enzimas teciduais, como a fosfatase alcalina, gerando o efeito mineralizador

SAFAVI & NICHOLS (1994) observaram alterações das propriedades biológicas de lipopolissacarídeos bacterianos por tratamento com hidróxido de cálcio. Culturas de monócitos foram estimuladas com lipopolissacarídeo bacteriano ou LPS tratados com hidróxido de cálcio, sendo analisadas em relação ao conteúdo de prostaglandinas E2 através de espectrofotometria de massa para gás cromatográfico. A prostaglandina E2 foi identificada em monócitos expostos ao LPS, mas não naqueles estimulados com LPS tratados com hidróxido de cálcio, permitindo a conclusão de que o tratamento com hidróxido de cálcio pode alterar as propriedades biológicas do LPS bacteriano.

ESTRELA et al. (1995) analisaram o efeito antibacteriano de duas pastas de hidróxido de cálcio, uma associada ao soro fisiológico e a outra ao paramonoclorofenol canforado, sobre microrganismos facultativos (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Streptococcus faecalis*) em períodos de 24 e 48 horas, através do método de difusão em ágar. Os resultados demonstraram que as duas pastas foram efetivas sobre todos os microrganismos analisados em 24

e 48 horas. A pasta que continha o hidróxido de cálcio com PMCC mostrou um maior halo de inibição de crescimento. Embora, os autores acreditam que este fato ocorreu devido a dificuldade de difusão dos íons hidroxila da pasta de hidróxido de cálcio com soro fisiológico no ágar.

KONTAKIOTIS et al. (1995) estudaram in vitro a ação indireta do hidróxido de cálcio sobre a flora anaeróbia do canal radicular, particularmente sobre bactérias anaeróbias obrigatórias e facultativas isoladas de canais radiculares infectados. Uma placa com as bactérias e outra com hidróxido de cálcio foram incubadas em meio anaeróbio por 72 horas, constituindo o grupo experimental. Uma placa contendo algumas espécies bacterianas incubadas da mesma maneira, formaram o grupo controle. Posterior a 72 horas o número de bactérias recuperadas foram contadas em ambos os grupos. O número de bactérias recuperadas no grupo controle foi significativamente maior, mediante análise estatística, todavia, nenhuma resistência específica ao hidróxido de cálcio foi detectada. Os resultados sugerem que a capacidade do hidróxido de cálcio em absorver dióxido de carbono pode contribuir para seu efeito antimicrobiano.

ESTRELA et al. (1995) analisaram a ação antibacteriana de cimentos contendo hidróxido de cálcio (Sealapex, Apexit e Sealer 26) sobre o *Enterococcus faecalis*, a *Pseudomonas aeruginosa* e a *Escherichia coli*, através de teste de difusão em ágar. Os resultados demonstraram total ausência de efeito antibacteriano. Acrescentam ainda, que a dissociação iônica dos cimentos analisados provavelmente seria maior se o meio fosse aquoso, o que poderia modificar a ação antibacteriana dos mesmos sobre o ágar.

SIQUEIRA et al. (1996) avaliaram a atividade antibacteriana de algumas pastas de hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2 - 1g, Óxido de zinco 0,5 g, PMCC- 0,5 ml e glicerina; Ca(OH)_2 - 1g, Óxido de zinco 0,5 g, PMCC - 1 gota, glicerina; Ca(OH)_2 - 1g, Óxido de zinco 1g, PMCC 0,5 ml, glicerina; Ca(OH)_2 + água destilada; hidróxido de potássio - 1 pastilha; hidróxido de sódio - 1 pastilha; óxido de zinco + água destilada), sobre os seguintes microrganismos: *Fusobacterium nucleatum*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus sobrius*, utilizando o teste de difusão em ágar. Os resultados mostraram que das três bases fortes testadas, os hidróxidos de sódio e potássio apresentaram atividade antibacteriana excelente. Nenhuma zona de inibição associada ao hidróxido de cálcio foi observada. Das pastas contendo diferentes proporções de hidróxido de cálcio, óxido de zinco e PMCC, as que continham uma maior quantidade desta última substância

apresentaram maiores efeitos inibitórios. O óxido de zinco, adicionado à pasta para conferir-lhe radiopacidade, não apresentou qualquer efeito antibacteriano.

ESTRELA et al. (1996) avaliaram a incidência de dor frente ao tratamento da inflamação periapical aguda e crônica, em 176 dentes portadores de necrose pulpar, que ao exame radiográfico apresentaram ou não, área de rarefação óssea periapical difusa ou circunscrita. Posterior ao esvaziamento, preparo completo do canal radicular na primeira sessão, e seu preenchimento com pasta de hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico, observaram que nas situações de necrose pulpar, necrose com rarefação difusa e circunscrita apresentando sintomatologia prévia, houve ausência total de dor pós-operatória em 64,3% , 68,2% e 61,5% , respectivamente. Os resultados quando o pré-operatório foram assintomáticos, demonstraram percentuais de 87% , 82,4% e 84%, respectivamente para as situações descritas. Desta forma, os autores concluíram que nos casos clínicos de necrose pulpar (sintomática ou assintomática), independentemente do aspecto radiográfico, pode-se realizar na primeira sessão o preparo biomecânico, o preenchimento do canal radicular com pasta de hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico e o selamento coronário.

SIQUEIRA et al. (1996) analisaram a atividade antibacteriana de medicamentos Endodônticos (pasta de Ca(OH)_2 associada a água destilada; pasta de Ca(OH)_2 em PMC aquoso a 2%; PMC aquoso a 2%; PMC associado ao furacin; e PMCC), sobre bactérias anaeróbias estritas (*Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Propionibacterium acnes* e *Bacteróides fragilis*), através de teste de difusão em ágar. Os resultados mostraram que o PMCC, o PMC associado ao Furacin e a pasta de hidróxido de cálcio em PMC a 2% apresentaram elevada atividade antibacteriana contra as bactérias anaeróbias estritas. O PMC aquoso a 2% apresentou baixa atividade antibacteriana, enquanto que a pasta de hidróxido de cálcio em água destilada foi ineficaz contra todas as espécies testadas.

LOPES et al. (1996) reportando sobre algumas considerações químicas, microbiológicas e biológicas do hidróxido de cálcio, destaca-se como propriedades fundamentais as seguintes: enzimática, dissolução tecidual, anti-hemorragica, alcalinizante e de preenchimento. Consideram ainda que existem questionamentos quanto ao melhor veículo a ser utilizado, sendo que, o que se sabe é a fundamental importância do canal radicular estar adequadamente preparado e a pasta de hidróxido de cálcio preencher completamente o canal bem modelado.

SIQUEIRA et al. (1996) estudaram a desinfecção por pasta de hidróxido de cálcio associado ao soro fisiológico e ao PMCC, em dentina bovina infectada com *Actinomyces israelii*, *Fusobacterium nucleatum* e *Enterococcus faecalis*, nos períodos de 1 hora, 1 dia e 1 semana. Os resultados mostraram que a pasta de hidróxido de cálcio com PMCC foi efetiva matando bactérias nos túbulos após 1 hora de exposição, exceto o *E. faecalis* que requer 1 dia de exposição. A pasta de hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico foi inefetiva após uma semana de exposição.

SYDNEY (1996) identificou a presença de bactérias anaeróbias em canais radiculares de dentes portadores de polpa necrótica e lesão periapical, após seu preparo e o emprego ou não de medicação intracanal com pasta de hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico. Vinte dentes humanos, anteriores superiores foram utilizados e divididos em dois grupos. Os dentes do grupo I tiveram sua população microbiana identificada após coleta, transporte e processamento microbiológico, onde os canais foram instrumentados e selados sem nenhum medicamento por período de uma a seis semanas, quando novas coletas microbianas foram realizadas. Nos dentes do grupo II, após identificação da população microbiana, os canais foram instrumentados e receberam como medicação intracanal pasta de hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico, permanecendo por período de uma a seis semanas. Ao término de cada período, novas coletas microbianas foram realizadas. Os resultados mostraram a importância do emprego da medicação intracanal, tendo o hidróxido de cálcio promovido uma redução de 77,8% de microrganismos após sua permanência por uma semana, e posterior a seis semanas, apenas 1 caso, cuja bactéria pode ser identificada, o *Enterococcus faecalis*.

SIQUEIRA et al. (1997) avaliaram a atividade antibacteriana da pasta de hidróxido de cálcio associada ao PMCC e glicerina, contendo diferentes proporções de iodofórmio sobre bactérias anaeróbias estritas e facultativas (*Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sanguis*), através de método de difusão em ágar. Os resultados mostraram que a adição de iodofórmio à pasta não interfere em suas propriedades antibacterianas e que o elemento responsável pela atividade antibacterina exibida pela pasta foi provavelmente o PMCC liberado.

ESTRELA et al. (1997) determinaram in vitro o efeito antimicrobiano direto do hidróxido de cálcio sobre vários microrganismos (*Micrococcus luteus*, ATCC 9341; *Staphylococcus aureus*, ATCC 6538; *Fusobacterium nucleatum*, ATCC 25586; *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 27853;

Escherichia coli, IPT-UFG; e *Streptococcus sp.*, IPT-UFG), em intervalos de 0, 1, 2, 6, 12, 24, 48, 72 horas e 7 dias. Estas cepas foram cultivadas em Brain-Heart Infusion (BHI), com excessão do *Fusobacterium nucleatum* onde foi cultivada em meio reduzido (BHI-pras). Cones de papel autoclavados foram imersos em culturas puras destes microrganismos e em misturas pelo período de 3 minutos, e posteriormente cobertos com pasta de hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico, sendo removidos nos diferentes períodos, e transferidos para o meio apropriado (BHI) para observar seu crescimento e multiplicação. A incubação foi conduzida a 37° C por 48 horas, de acordo com as exigências de oxigênio de cada microrganismo. O efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio foi demonstrado ocorrer após 12 horas sobre o *Micrococcus luteus* e o *Fusobacterium nucleatum*, 24 horas sobre o *Streptococcus sp*, 48 horas sobre a *Escherichia coli*, e 72 horas sobre o *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. A mistura II (*M. luteus* + *Streptococcus sp* + *S. aureus*) foi sensível ao potencial antimicrobiano do hidróxido de cálcio em 48 horas; enquanto que a mistura I (*M. luteus* + *E. coli* + *P. aeruginosa*), mistura III (*E. coli* + *P. aeruginosa*) e a mistura IV (*S. aureus* + *P. aeruginosa*) foram inativadas após 72 horas de exposição.

ESTRELA et al. (1997) reportaram que a ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio decorrente de seu pH elevado, determinada pela liberação de íons hidroxila, requer tempo ideal para a efetiva ação dos microrganismos, quer por contato direto ou indireto nos túbulos dentinários. Nesta pesquisa, foi avaliado o efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio em túbulos dentinários infectados, a partir de sua difusão, nos períodos de 0, 48, 72 horas e 7 dias. Quatro cepas bacterianas: *Streptococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) foram repicadas em 5 ml de Brain-Heart Infusion (BHI) e incubada a 37°C por 24 horas. Cinco grupos de 12 dentes anteriores foram instrumentados, esterilizados em autoclave, inoculados com estes microrganismos por um período de 28 dias. A seguir, foram irrigados com soro fisiológico e preenchidos com pasta de Ca(OH)_2 e soro fisiológico. Em intervalos de 0, 48, 72 horas e 7 dias, a pasta de hidróxido de cálcio foi removida, os canais radiculares foram secados e os dentes imersos em 5 ml de caldo BHI, mantidos a 37°C por 48 horas. O crescimento bacteriano foi evidenciado pela turvação do meio de cultura e confirmado pela semeadura destes caldos em placas de ágar BHI a 37°C por 24 horas. Coloração de Gram foi realizada a partir do crescimento do caldo bem como das colônias das placas de ágar BHI, para confirmação microscópica dos microrganismos inoculados. Os resultados mostraram que no período de 7 dias o hidróxido de cálcio foi inefetivo por ação indireta contra os microrganismos testados.

3 Proposição

O objetivo desta pesquisa é estudar a eficácia de pastas de hidróxido de cálcio acrescidas a diferentes veículos, sobre os microrganismos: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* e a mistura destes, em períodos de 1 minuto, 48 horas, 72 horas e 7 dias.

4 Material e Método

4.1 Microrganismos Indicadores

No desenvolvimento deste estudo, foram utilizados microrganismos com distintas características morfo-tinto-respiratórias: cocos e bastonetes, Gram positivos e negativos, aeróbios facultativos indiferentes e aeróbios facultativos verdadeiros, além de uma levedura. Assim o painel de microrganismos indicadores estava constituído por uma cepa isolada no Instituto de Patologia Tropical da Universidade Federal de Goiás, quatro oriundas da *American Type Culture Collection* (ATCC) e uma conseguida no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de São Paulo. Na presente investigação também foi ensaiada uma mistura microbiana, constituída pelas cepas selecionadas.

Os microrganismos indicadores e a sua respectiva mistura, que foram utilizados na forma de suspensões teste, estão referidos no Quadro 1.

Quadro 1. Microrganismos indicadores.

Microrganismos	IPT / ATCC / CBS
1. <i>Streptococcus mutans</i>	IPT / UFG
2. <i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC 29212
3. <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
5. <i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633*
6. <i>Candida albicans</i>	CBS - ICB / USP 562
7. Mistura	<i>S. mutans</i> + <i>S. faecalis</i> + <i>S. aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>C. albicans</i>

* Obtida junto ao Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

A propagação da cepa foi realizada em 5 mL de Brain Heart Infusion (BHI, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA). A composição do BHI empregada é a seguinte:

Brain Heart Infusion	(per litre)
<i>Calf Brain Infusion (solids)</i>	12,58 g
<i>Beef Heart (solids)</i>	5,0 g
<i>Proteose Peptone (oxid L46)</i>	10,0 g
<i>Sodium Chloride</i>	5,0 g
<i>Dextrose</i>	2,0 g
<i>Disodium Phosphste (anhyd)</i>	2,5 g

4.2 Preparo das Medicações Intracanaís

As medicações intracanal, teste e controle, cujas atividades antimicrobianas foram ensaiadas neste estudo, estão listadas no Quadro 2. A base, para a maioria das medicações foi o hidróxido de cálcio P. A. (Quimis, Mallinkrodt Inc., USA).

Para o preparo das pastas, foi utilizada a quantidade de 16 gramas de hidróxido de cálcio para a proporção de veículo correspondente à obtenção de uma pasta com consistência de creme dental. As pastas cujos veículos foram a solução fisiológica esterilizada (NaCl 0,9% em água

destilada), solução de paramonoclorofenol 1,0% (Galena Ind. Química e Farmacêutica Ltda., SP / Natu Pharmu's, GO, Brasil), solução de clorexedine 1,0% (Galena Ind. Química e Farmacêutica Ltda., SP / Natu Pharmu's, GO, Brasil), solução de lauril sulfato de sódio 3,0% (Galena Ind. Química e Farmacêutica Ltda., SP / Natu Pharmu's, GO, Brasil) e Otosporin[®] (hidrocortisona, sulfato de polimixina B e sulfato de neomicina, Laboratórios Welcome Zeneca Ltda., SP, Brasil), foram preparadas com viscosidade de 3225 centi-Poise - 2 rpm (Reometer Digital Brookfield, model DV - III - LV), correspondendo a consistência de creme dental, com pH 12,6 determinado utilizando-se de um peagâmetro (Analion, pH Digital, PM 605).

O veículo da pasta à base de hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol e Furacin[®] foi preparado conforme instruções propostas por HOLLAND et al. (1978), segundo as quais é indicado o uso de uma solução experimental, composta de 5 gramas de paramonoclorofenol dissolvidos em 28 mL de Furacin[®] (solução de nitrofurazona, Schering-Plough S/A, RJ, Brasil). A manipulação da pasta foi realizada de modo que fosse obtida, também, a consistência de creme dental.

O CALEN[®] acrescido de paramonoclorofenol canforado, foi utilizado em obediência às recomendações do fabricante (SSWhite; Ref.05108) e dos autores LEONARDO & LEAL (1991) e LEONARDO et al. (1993).

A pasta apresentando em sua composição *Flagyl*[®] (metronidazol, Rodhia) foi preparada segundo a proporção de 400 mg de *Flagyl*[®] para 1,2 gramas de hidróxido de cálcio, acrescidos de solução fisiológica esterilizada até obtenção da consistência de creme dental.

A medicação composta pela associação paramonoclorofenol e Furacin[®] foi preparada segundo os critérios referidos na literatura especializada (HOLLAND et al., 1978) e considerados anteriormente.

Paralelamente, foram utilizadas duas outras substâncias, constituídas por solução fisiológica e Ágar-ágar a 1% (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) em água destilada, incluídas na experimentação com finalidade controle. Essas substâncias foram esterilizadas a 121° C, durante 20 minutos.

Quadro 2. Relação das medicações intracanal empregadas

Pastas de Hidróxido de Cálcio
1. Ca(OH)_2 + Solução Fisiológica Esterilizada
2. Ca(OH)_2 + Solução de Paramonoclorofenol 5g + Furacin [®] 28 mL
3. Ca(OH)_2 + Solução de Paramonoclorofenol a 1%
4. CALEN [®] PMCC (SSWhite)
5. Ca(OH)_2 + Solução de Clorexedine a 1%
6. Ca(OH)_2 (1,2g) + Flagyl [®] 400mg + Solução Fisiológica Esterilizada
7. Ca(OH)_2 + Solução de Lauril sulfato de sódio a 3%
8. Ca(OH)_2 + Otosporin [®]
9. Paramonoclorofenol 5g + Furacin [®] 28 mL
10. Solução Fisiológica Esterilizada
11. Ágar-ágar

4.3 Testes de Atividade

A partir do meio líquido os microrganismos foram cultivados no bisel do meio sólido - BHI + 2% de Ágar-ágar (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), previamente distribuído em tubos de ensaio e esterilizado a 121° C, durante 20 minutos. Decorridas 48 horas de incubação, à temperatura de 37° C e em condições respiratórias adequadas aos indicadores, células microbianas eram suspensas em solução fisiológica esterilizada. Em todos os casos, a suspensão teste era ajustada, com auxílio do mesmo diluente, ao tubo número 1 da Escala de MacFarland, na concentração aproximada de 3×10^8 células por mL.

Para o preparo da mistura, uma alíquota de 1 mL era retirada das suspensões puras e transferida para um tubo de ensaio, obtendo-se, portanto, a mistura experimental contendo *S. mutans* + *S. faecalis* + *S. aureus* + *P. aeruginosa* + *B. subtilis* + *C. albicans*.

Objetivando os testes de atividade, novecentos e vinte e quatro cones de papel absorventes de números 40 (Tanari, Tanariman Indústria, Ltda, Manacaru, AM, Brasil), foram esterilizados por autoclavagem e, posteriormente, imersos nas suspensões microbianas experimentais, durante 3 minutos, objetivando o processo de contaminação. Decorrido esse

período, os cones de papel foram distribuídos em placas de Petri e, na sequência, cobertos pelas diferentes medicações intracanal, consideradas as nove condições teste e as duas situações controle.

A intervalo de 1 minuto, 48, 72 horas e 7 dias, 231 cones de papel absorventes eram removidos do contato com as medicações ensaiadas e transportados, individualmente, para 5 mL de *Letheen Broth* (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA). Os ingredientes do *Letheen Broth*, e as suas respectivas concentrações/litro de meio, estão listados no quadro 3.

Quadro 3. Composição do Letheen Broth

Letheen Broth	
<i>Bacto peptamin</i>	10 g
<i>Bacto beef extract</i>	5 g
<i>Lecithin</i>	0,7 g
<i>Tween 80</i>	5 g
<i>Sodium chlorite</i>	5 g

Na sequência, o material microbiológico era incubado a 37° C por 48 horas, em ambiente favorável às exigências respiratórias dos microrganismos indicadores e, então, analisado, macroscopicamente, quanto à presença ou ausência de turvação, indicativa, ou não, de crescimento e multiplicação de microrganismos.

Invariavelmente, todos os tubos foram selecionados para a confirmação dos resultados macroscópicos. Assim, inóculo de 0,1 mL, obtido a partir do *Letheen Broth*, foi transferido para 5 mL de BHI, procedendo-se às mesmas condições de incubação. A leitura final foi, também, macroscópica e, em caso de dúvida, complementada pela observação microscópica, tendo como parâmetro a coloração de Gram.

Em todas as etapas experimentais, sem exceção, a técnica asséptica foi valorizada, os ensaios foram conduzidos segundo a recomendação de duplo cego e os testes foram efetuados em triplicata.

O Quadro 4 mostra a distribuição dos cones de papel absorvente, em função das medicações intracanal, teste e controle, e dos tempos experimentais.

Quadro 4. Distribuição das pontas de papel em função das pastas e do tempo

Microrganismos	Pastas	Tempo			
		1 minuto	48 horas	72 horas	7 dias
<i>Streptococcus Faecalis</i>	1	3	3	3	3
	2	3	3	3	3
	3	3	3	3	3
	4	3	3	3	3
	5	3	3	3	3
	6	3	3	3	3
	7	3	3	3	3
	8	3	3	3	3
	9	3	3	3	3
	10	3	3	3	3
	11	3	3	3	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3	3	3	3
	2	3	3	3	3
	3	3	3	3	3
	4	3	3	3	3
	5	3	3	3	3
	6	3	3	3	3
	7	3	3	3	3
	8	3	3	3	3
	9	3	3	3	3
	10	3	3	3	3
	11	3	3	3	3
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	1	3	3	3	3
	2	3	3	3	3
	3	3	3	3	3
	4	3	3	3	3
	5	3	3	3	3
	6	3	3	3	3
	7	3	3	3	3
	8	3	3	3	3
	9	3	3	3	3
	10	3	3	3	3
	11	3	3	3	3
<i>Bacillus subtilis</i>	1	3	3	3	3
	2	3	3	3	3
	3	3	3	3	3
	4	3	3	3	3
	5	3	3	3	3
	6	3	3	3	3
	7	3	3	3	3
	8	3	3	3	3
	9	3	3	3	3
	10	3	3	3	3
	11	3	3	3	3

Microrganismos	Pastas	Tempo			
		1 minuto	48 horas	72 horas	7 dias
<i>Cândida albicans</i>	1	3	3	3	3
	2	3	3	3	3
	3	3	3	3	3
	4	3	3	3	3
	5	3	3	3	3
	6	3	3	3	3
	7	3	3	3	3
	8	3	3	3	3
	9	3	3	3	3
	10	3	3	3	3
	11	3	3	3	3
<i>Streptococcus mutans</i>	1	3	3	3	3
	2	3	3	3	3
	3	3	3	3	3
	4	3	3	3	3
	5	3	3	3	3
	6	3	3	3	3
	7	3	3	3	3
	8	3	3	3	3
	9	3	3	3	3
	10	3	3	3	3
	11	3	3	3	3
<i>Mistura</i>	1	3	3	3	3
	2	3	3	3	3
	3	3	3	3	3
	4	3	3	3	3
	5	3	3	3	3
	6	3	3	3	3
	7	3	3	3	3
	8	3	3	3	3
	9	3	3	3	3
	10	3	3	3	3
	11	3	3	3	3

5 Resultados

Os resultados estão expressos nas Tabelas 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10, demonstrando o efeito antimicrobiano das diferentes pastas de hidróxido de cálcio, sobre o *Streptococcus mutans*, o *Streptococcus faecalis*, o *Staphylococcus aureus*, a *Pseudomonas aeruginosa*, o *Bacillus subtilis*, a *Candida albicans*, e a mistura destes, nos períodos de 1 minuto; 48; 72 horas e 7 dias.

Tabela 4. Efeito de diferentes medicações intracanaais sobre o *Streptococcus mutans*.

Pastas	Tempo			
	1 minuto	48 horas	72 horas	7 dias
1. Ca(OH) ₂ +Sol.Fisiológica	- - -	- - -	- - -	- - -
2. Ca(OH) ₂ +PMC+Furacin ^â	- - -	- - -	- - -	- - -
3. Ca(OH) ₂ +Sol. PMC - 1%	- - -	- - -	- - -	- - -
4. Calen ^â + PMCC	- - -	- - -	- - -	- - -
5. Ca(OH) ₂ +Clorexidina 1%	- - -	- - -	- - -	- - -
6. Ca(OH) ₂ +Flagyl ^â +S.Fisiol	+ + +	+ + +	- - -	- - -
7. Ca(OH) ₂ +S. Lauril SS 3%	- - -	- - -	- - -	- - -
8. Ca(OH) ₂ + Otosporin ^â	- - -	- - -	- - -	- - -
9. PMC 5g + Furacin ^â 28 mL	- - -	- - -	- - -	- - -
10. Solução Fisiológica	+ + +	+ + +	- - -	- - -
11. Ágar-ágar	+ + +	+ + +	- - -	- - -

(-) negativo = ausência de crescimento; (+) positivo = presença de crescimento

Tabela 5. Efeito de diferentes medicações intracanaais sobre o *Streptococcus faecalis*.

Pastas	Tempo			
	1 minuto	48 horas	72 horas	7 dias
1. Ca(OH) ₂ +Sol.Fisiológica	+ + +	- - -	- - -	- - -
2. Ca(OH) ₂ +PMC+Furacin ^â	+ + +	- - -	- - -	- - -
3. Ca(OH) ₂ +Sol. PMC - 1%	+ + +	- - -	- - -	- - -
4. Calen ^â + PMCC	- - -	- - -	- - -	- - -
5. Ca(OH) ₂ +Clorexidina 1%	+ + +	- - -	- - -	- - -
6. Ca(OH) ₂ +Flagyl ^â +S.Fisiol	+ + +	- - -	- - -	- - -
7. Ca(OH) ₂ +S. Lauril SS 3%	+ + +	- - -	- - -	- - -
8. Ca(OH) ₂ + Otosporin ^â	- - -	- - -	- - -	- - -
9. PMC 5g + Furacin ^â 28 mL	- - -	- - -	- - -	- - -
10. Solução Fisiológica		+ + +	+ + +	- - -
11. Ágar-ágar	+ + +	+ + +	+ + +	- - -

(-) negativo = ausência de crescimento; (+) positivo = presença de crescimento

Tabela 6. Efeito de diferentes medicações intracanaais sobre o *Staphylococcus aureus*.

Pastas	Tempo			
	1 minuto	48 horas	72 horas	7 dias
1. Ca(OH) ₂ +Sol.Fisiológica	+ + +	- - -	- - -	- - -
2. Ca(OH) ₂ +PMC+Furacin ^â	- - -	- - -	- - -	- - -
3. Ca(OH) ₂ +Sol. PMC - 1%	+ + +	- - -	- - -	- - -
4. Calen ^â + PMCC	+ + +	- - -	- - -	- - -
5. Ca(OH) ₂ +Clorexidina 1%	- - -	- - -	- - -	- - -
6. Ca(OH) ₂ +Flagyl ^â +S.Fisiol	+ + +	+ + +	- - -	- - -
7. Ca(OH) ₂ +S. Lauril SS 3%	+ + +	- - -	- - -	- - -
8. Ca(OH) ₂ + Otosporin ^â	- - -	- - -	- - -	- - -
9. PMC 5g + Furacin ^â 28 mL	- - -	- - -	- - -	- - -
10. Solução Fisiológica	+ + +	+ + +	+ + +	- - -
11. Ágar-ágar	+ + +	+ + +	+ + +	- - -

(-) negativo = ausência de crescimento; (+) positivo = presença de crescimento

Tabela 7. Efeito de diferentes medicações intracanaais sobre a *Pseudomonas aeruginosa*.

Pastas	Tempo			
	1 minuto	48 horas	72 horas	7 dias
1. Ca(OH) ₂ +Sol.Fisiológica	- - -	- - -	- - -	- - -
2. Ca(OH) ₂ +PMC+Furacin ^â	- - -	- - -	- - -	- - -
3. Ca(OH) ₂ +Sol. PMC - 1%	+ + +	- - -	- - -	- - -
4. Calen ^â + PMCC	+ + +	- - -	- - -	- - -
5. Ca(OH) ₂ +Clorexidina 1%	+ + +	- - -	- - -	- - -
6. Ca(OH) ₂ +Flagyl ^â +S.Fisiol	+ + +	+ + +	- - -	- - -
7. Ca(OH) ₂ +S. Lauril SS 3%	+ + +	- - -	- - -	- - -
8. Ca(OH) ₂ + Otosporin ^â	- - -	- - -	- - -	- - -
9. PMC 5g + Furacin ^â 28 mL	- - -	- - -	- - -	- - -
10. Solução Fisiológica	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
11. Ágar-ágar	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +

(-) negativo = ausência de crescimento; (+) positivo = presença de crescimento

Tabela 8. Efeito de diferentes medicações intracanaís sobre o *Bacillus subtilis*

Pastas	Tempo			
	1 minuto	48 horas	72 horas	7 dias
1. Ca(OH)_2 +Sol.Fisiológica	+	+	-	-
2. Ca(OH)_2 +PMC+Furacin ^â	-	-	-	-
3. Ca(OH)_2 +Sol. PMC - 1%	-	-	-	-
4. Calen ^â + PMCC	+	-	-	-
5. Ca(OH)_2 +Clorexidina 1%	+	-	-	-
6. Ca(OH)_2 +Flagyl ^â +S.Fisiol	-	-	-	-
7. Ca(OH)_2 +S. Lauril SS 3%	+	-	-	-
8. Ca(OH)_2 + Otosporin ^â	-	-	-	-
9. PMC 5g + Furacin ^â 28 mL	-	-	-	-
10. Solução Fisiológica	+	+	+	+
11. Ágar-ágar	+	+	+	+

(-) negativo = ausência de crescimento; (+) positivo = presença de crescimento

Tabela 9. Efeito de diferentes medicações intracanaís sobre a *Candida albicans*

Pastas	Tempo			
	1 minuto	48 horas	72 horas	7 dias
1. Ca(OH)_2 +Sol.Fisiológica	+	-	-	-
2. Ca(OH)_2 +PMC+Furacin ^â	-	-	-	-
3. Ca(OH)_2 +Sol. PMC - 1%	-	-	-	-
4. Calen ^â + PMCC	+	-	-	-
5. Ca(OH)_2 +Clorexidina 1%	-	-	-	-
6. Ca(OH)_2 +Flagyl ^â +S.Fisiol	+	-	-	-
7. Ca(OH)_2 +S. Lauril SS 3%	+	-	-	-
8. Ca(OH)_2 + Otosporin ^â	+	-	-	-
9. PMC 5g + Furacin ^â 28 mL	-	-	-	-
10. Solução Fisiológica	+	+	+	+
11. Ágar-ágar	+	+	+	+

(-) negativo = ausência de crescimento; (+) positivo = presença de crescimento

Tabela 10. Efeito de diferentes medicações intracanaais sobre o *S. mutans* + *S. faecalis* + *S. aureus* + *P. aeruginosa* + *B. subtilis* + *C. albicans*.

Pastas	Tempo			
	1 minuto	48 horas	72 horas	7 dias
1. Ca(OH)₂+Sol.Fisiológica	+ + +	- - -	- - -	- - -
2. Ca(OH)₂+PMC+Furacin^â	+ + +	- - -	- - -	- - -
3. Ca(OH)₂+Sol. PMC - 1%	+ + +	- - -	- - -	- - -
4. Calen^â + PMCC	+ + +	- - -	- - -	- - -
5. Ca(OH)₂+Clorexidina 1%	- - -	- - -	- - -	- - -
6. Ca(OH)₂+Flagyl^â+S.Fisiol	+ + +	- - -	- - -	- - -
7. Ca(OH)₂+S. Lauril SS 3%	+ + +	- - -	- - -	- - -
8. Ca(OH)₂ + Otosporin^â	+ + +	- - -	- - -	- - -
9. PMC 5g + Furacin^â 28 mL	- - -	- - -	- - -	- - -
10. Solução Fisiológica	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
11. Ágar-ágar	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +

(-) negativo = ausência de crescimento; (+) positivo = presença de crescimento

6 Discussão

A dinâmica observada entre a infecção do complexo dentino-pulpar e o desenvolvimento da periodontite apical, com consequente resposta do hospedeiro, estimularam avanços expressivos na busca de maiores conhecimentos da estrutura da microbiota endodôntica. Critérios significativos para isolamento e identificação de microrganismos, baseados em parâmetros morfológicos, nutricionais, culturais, metabólicos, antigênicos e genéticos (análise da sequência de DNA e RNA), possibilitaram definir a diversidade taxonômica dos microrganismos encontrados nas patologias pulpo-periodontais, contribuindo de forma decisiva para se estabelecer o tratamento.

A determinação dos tipos de microrganismos, presentes e predominantes nas infecções dos canais radiculares e tecidos periapicais, representa fator imprescindível à adoção de condutas destinadas ao controle microbiano e, conseqüentemente, estímulo ao reparo tecidual.

O conhecimento morfológico, estrutural e fisiológico dos microrganismos responsáveis por quadros álgicos e destruição dos tecidos periapicais inspiraram algumas tendências

terapêuticas, porém diversificadas, marcando diferentes períodos históricos, em que abordagens empíricas foram confrontadas com estratégias cientificamente sedimentadas.

O processo evolutivo possibilitou um alicerce científico claro e preciso ao exercício da Endodontia, impondo métodos reprodutíveis, compostos por resultados esclarecedores às diferentes formas de pensamento, trocando opiniões científicas por fatos científicos que, uma vez não confirmados, também enquadrariam num conjunto de ficções científicas ou, meramente no campo das hipóteses improváveis.

Os avanços conquistados e a confirmação pelo tempo mostram as tendências atuais para muitas mudanças de conceitos e afirmações.

O primeiro passo para o estabelecimento do tratamento endodôntico é o conhecimento da inter-relação entre microrganismos e hospedeiro, em conjunto com a dinâmica química e biológica da medicação intracanal.

A lesão cariosa progride lentamente através do esmalte e, rapidamente através dos túbulos dentinários, transformando-se em sítio retentivo, de baixo pH, que solubiliza os minerais da dentina e desnatura seu colágeno, selecionando microrganismos capazes de sobreviver e crescer em condições ácidas e metabolizar o colágeno desnaturado. A partir da progressão da cárie, em direção à polpa dental, pode-se observar, inicialmente, a inflamação e, posteriormente, a mortificação pulpar. Os produtos oriundos da degradação pulpar, por diferentes e complexos mecanismos de agressão microbiana, paralelamente à reação do hospedeiro, dirigem-se do canal radicular para a região periapical, servindo como fonte de irritantes. O mecanismo de formação da lesão periapical está diretamente relacionado a produtos microbianos, celulares e extracelulares, produzindo resposta inflamatória e induzindo reação imunológica do tipo humoral e celular.

Como é do conhecimento endodôntico, as infecções, características dos canais radiculares e tecidos periapicais, são polimicrobianas, cujos componentes são dotados de acentuado potencial patogênico, predominando bactérias anaeróbias Gram- negativas.

Assim em nível do canal radicular e região periapical, observa-se a interação parasito-hospedeiro e responsável por diversas reações que potencializam a infecção; determina a inibição da quimiotaxia dos neutrófilos e fagocitose; garante a migração de enzimas lisossômicas; participa da resposta imunológica por ativação do sistema complemento (C 3 e C 5); induz a

produção de anticorpos; e interfere com a sensibilidade antibiótica, resultando na permanência de lesões periapicais dolorosas

(DAHLÉN & HOFSTAD, 1977; SUNDQVIST, 1976; SUNDQVIST et al., 1979; SUNDQVIST & JOHANSSON, 1980; DAHLÉN & BERGENHOLTZ, 1980).

A neutralização de todas as formas de agressão microbiana no canal radicular e tecidos periapicais, imposta pelo estabelecimento de métodos de controle, possibilita a completa sanificação do sistema de túbulos dentinários.

Essa sanificação tem sido delegada à fase do preparo químico- mecânico do canal radicular. A obtenção da forma do canal radicular, a partir do esvaziamento, com a consequente neutralização do conteúdo séptico-tóxico, proporciona a eliminação de restos de matéria orgânica e de grande contingente de microrganismos. Todavia, foi demonstrado que a instrumentação isoladamente, não garante a sua completa remoção (BYSTROM & SUNDQVIST, 1981, 1983; BYSTROM et al., 1987; SYDNEY & ESTRELA, 1996).

O fator mais representativo no combate aos microrganismos não se restringe àqueles presentes na luz do canal principal, mas, principalmente, aos residentes no interior dos túbulos e ramificações dentinárias. Deve-se considerar que a anatomia interna é extremamente complexa, muitas vezes inacessível à ação mecânica do instrumento endodôntico, o que impõe, nestas ocasiões, uma efetiva ação antimicrobiana e neutralizante, acompanhada pela dissolução tecidual, proporcionada pela substância química em associação com a medicação intracanal (HOLLAND et al., 1979; HARRISON & MADONIA, 1971; HARRISON & HAND, 1981; AKPTA & BECHMAN, 1982; COSTA et al., 1986; PAIVA & ANTONIAZZI, 1988; SOUZA et al., 1992; PÉCORA et al., 1993; TANOMARU FILHO, 1996; ESTRELA et al., 1997). Por conseguinte, a medicação intracanal constitui indicação precisa em diferentes situações: manutenção do saneamento conquistado durante o preparo químico-mecânico, em condições de vitalidade pulpar; controle de microrganismos que resistiram à fase do preparo de canais infectados; controle de reabsorções radiculares; tratamento de lesões periapicais extensas; apicificações; e perfurações.

Todavia, é oportuno enfatizar que a presença de microrganismos pode não determinar o fracasso, mas sua ausência certamente contribui para o sucesso do tratamento do dente em questão.

A origem microbiana do processo endodôntico, infecção do canal radicular e formação da lesão periapical, estimulou a busca de avanços científicos e tecnológicos, não apenas com a finalidade do estabelecimento do espectro microbiológico mas, também, de buscar condutas aplicáveis para seu controle. Por este motivo, o esclarecimento do mecanismo de ação de qualquer medicação antimicrobiana é fundamental antes de sua seleção, assim como a determinação da microbiota presente nos canais infectados.

A história da fase medicamentosa da Endodontia reporta o emprego de inúmeros fármacos, cuja indicação e aplicação clínica foram adotadas com base em várias justificativas (ZERLOTTI, 1959; BEVILACQUA, 1974; MARTINS et al., 1979; HOLLAND et al., 1979; PAIVA & ANTONIAZZI, 1988; LEONARDO & LEAL, 1991; TRONSTAD, 1991).

Atualmente, o hidróxido de cálcio é a medicação mais empregada, discutida e estudada, e sua consagração foi observada a partir das provas das pesquisas e do tempo.

A ação do hidróxido de cálcio relacionada à dissociação iônica, em íons hidroxila e íons cálcio, e o efeito destes sobre os microrganismos e os tecidos, permitiram a ESTRELA et al. (1994) destacarem duas expressivas propriedades enzimáticas desta medicação: a primeira, constituindo na inibição de enzimas bacterianas, representando seu efeito antimicrobiano; e a segunda ativação das enzimas teciduais, como a fosfatase alcalina, representando seu efeito biológico mineralizador.

A tentativa de correlacionar a liberação de íons hidroxila do hidróxido de cálcio, medicação dotada de elevado pH, com sua influência frente à atividade enzimática dos microrganismos, favoreceram ESTRELA et al. (1995) explicar o mecanismo de ação desta substância. Como as funções essenciais (metabolismo, crescimento e divisão celular) requerem a participação da membrana citoplasmática, sede de importantes sistemas enzimáticos, as alterações das atividades naturais dos microrganismos podem ser diretamente influenciadas pela liberação de íons hidroxila, capaz de alterar a integridade da membrana citoplasmática por meio de injúrias químicas aos componentes orgânicos e interferir no transporte de nutrientes; ou por meio da destruição de fosfolipídios ou ácidos graxos insaturados, conduzindo a reação de saponificação.

A capacidade de mudanças no pH dentinário, a partir de íons hidroxila do hidróxido de cálcio, é lenta e depende de vários fatores que podem alterar a velocidade de dissociação e difusão iônica, como: hidrossolubilidade, ou não, do veículo empregado, diferença de

viscosidade, característica ácido-base, permeabilidade dentinária, e grau de calcificação presente (ESTRELA et al., 1995; ESTRELA & PESCE, 1996).

Baseados na dificuldade de dissociação e difusão iônica do hidróxido de cálcio em alcalinizar rapidamente, e com valores elevados, a massa dentinária, e levando em consideração que o controle da atividade enzimática microbiana é dependente do elevado pH desta medicação, ESTRELA et al. (1994) levantaram a hipótese de que o hidróxido de cálcio poderia inativar enzimas microbianas de modo irreversível, em condições de elevado pH e por longos períodos de tempo; poderia, também, inativar enzimas microbianas de modo reversível, quando do retorno do pH ideal à ação enzimática, havendo volta à sua atividade normal.

Essa hipótese ficou reforçada quando ESTRELA et al. (1997), estudando o efeito antimicrobiano indireto do hidróxido de cálcio em túbulos dentinários, artificialmente infectados, demonstraram que a quantidade de íons hidroxila, liberados do hidróxido de cálcio em 7 dias, foi insuficiente para inativar os microrganismos indicadores, provavelmente porque foram incapazes de alterar a integridade da membrana citoplasmática de vários microrganismos, induzindo uma inativação enzimática reversível. A inativação enzimática irreversível ocorreu sobre um “pool” de microrganismos, que foi inativado no período de 12 a 72 horas de contato direto com a suspensão experimental (ESTRELA et al., 1997).

Outrossim, é oportuno enfatizar que independente às características morfo-tinto-respiratórias dos microrganismos, a estrutura da membrana citoplasmática é comparável no mundo microbiano, ao contrário do que acontece na parede celular, que apresenta características químicas e estruturas distintas, segundo a reatividade à coloração de Gram - a parede celular Gram-positiva, além do peptidoglicano, apresenta polímeros de ribitol fosfato (ácidos teicóicos) e polímeros de glicerol fosfato (ácido lipoteicóico), enquanto a parede Gram-negativa possui, externamente à estrutura básica, uma lipoproteína, a membrana externa e o lipopolissacarídeo, dotado de potencial endotóxico.

Como o sítio de ação dos íons hidroxila do hidróxido de cálcio envolve as enzimas presentes na membrana citoplasmática, dependendo de sua quantidade, esta medicação deve possuir um amplo espectro de ação, agindo, portanto, sobre uma gama variada e diversa de microrganismos, independente de sua capacidade metabólica.

SAFAVI & NICHOLS (1993, 1994) mostraram um efeito específico dos íons hidroxila nas bactérias Gram-negativas, os quais poderiam hidrolisar o lipopolissacarídeo presente,

degradando o lipídio A e, conseqüentemente, neutralizar seu efeito residual posterior à lise celular.

O acréscimo de diferentes substâncias que atuam como veículo à pasta de hidróxido de cálcio, teve por objetivo melhorar algumas de suas propriedades, como a ação antimicrobiana, a velocidade de dissociação iônica e propriedades físico-químicas, favorecendo as condições clínicas para seu emprego. Todavia, tem sido muito discutido qual a melhor opção no momento da seleção do veículo.

A partir das propriedades biológicas do hidróxido de cálcio, o seu emprego na prática clínica tem como referência sua eficácia antimicrobiana, associada à capacidade de favorecer o processo de reparação tecidual.

Todavia, torna-se oportuno justificar alguns fatores relativos ao presente estudo, quanto aos critérios adotados no tipo de análise realizada, à seleção dos veículos, ao período de tempo investigado e aos microrganismos avaliados.

A preocupação em estudar a eficácia antimicrobiana de pastas de hidróxido de cálcio por ação em contato direto sobre os microrganismos, justifica-se como suporte a vários questionamentos ainda existentes no contexto da medicação intracanal. As várias opções de veículos utilizados com vistas a aumentar o efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio, devem ser investigadas, em primeira instância, quanto ao comportamento direto, para posteriormente, dentre os melhores, selecioná-los para análise indireta, verificando a difusibilidade da medicação e a sua efetividade antimicrobiana no interior dos túbulos e ramificações dentinárias.

As características químicas dos veículos, quer seja hidrossolúvel ou oleoso, em conjunto com sua dissociação iônica e capacidade de difusão, podem ser consideradas propriedades tão, ou até mais importantes, do que a ação antimicrobiana do veículo, uma vez que o hidróxido de cálcio isoladamente apresenta esta propriedade com possibilidade, em uma associação de não manifestar efeito sinérgico e, talvez, ação antagônica.

O critério para a escolha dos veículos associados ao hidróxido de cálcio, nas pastas testadas, baseou-se na frequência de seu emprego nos casos de necrose pulpar, com ou sem periodontite apical. Dentre esses, primeiramente, aqueles que têm demonstrado resultados contraditórios e polêmicos, como o soro fisiológico e o paramonoclorofenol canforado. Em segundo lugar, os veículos menos empregados e

polêmicos quanto aos resultados de alguns experimentos, porém, possuindo adeptos e defensores, como a solução de paramonoclorofenol, o detergente e o Otosporin[®]. Em terceiro lugar, algumas substâncias e veículos que têm sido alvo de especulações quanto à potencialização do efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio, visto que, isoladamente, por aplicação tópica direta ou sistêmica, são antimicrobianos efetivos como o Flagyl[®] e a Clorexidina 1%. O paramonoclorofenol-5g associado a 28 mL de Furacin[®], foi utilizado no intuito de se estabelecer um parâmetro quando comparado às pastas de hidróxido de cálcio. O emprego isolado do soro fisiológico e do Ágar-ágar constituíram-se dois grupos controles.

Em decorrência do objetivo da avaliação ser a determinação da eficácia antimicrobiana por contato direto de diferentes medicações intracanais, estabeleceu-se o período de 1 minuto, 48, 72 horas e 7 dias. Nesse período, a medicação deveria, por contato direto, expressar sua total efetividade. Além do mais, na clínica esse período de tempo mais longo, mediante o qual é mantida uma medicação intracanal, tem sido considerado como rotina odontológica. De outra parte, ESTRELA et al. (1997) estabeleceram parâmetros em relação ao tempo para que a pasta de hidróxido de cálcio por contato direto possa exercer efeito lesivo sobre os microrganismos. Este tempo também foi investigado em outras pesquisas em que os períodos de estudo variaram de zero a 7 dias (FERREIRA et al., 1978; BYSTROM et al., 1985; SJOGREEN et al., 1991; GEORGOPOULOU et al., 1993; ESTRELA et al., 1997).

Os microrganismos selecionados para este experimento constituíram-se daqueles presentes em canais radiculares infectados, com distintas características morfo-tinto-respiratórias (cocos e bastonetes; Gram positivos e negativos; aeróbios facultativos indiferentes e aeróbios facultativos verdadeiros; além de uma levedura). A escolha procedeu-se também com base em microrganismos estudados em outros experimentos, sendo estes constituídos por *Streptococcus mutans* (MEJARÉ, 1974; ROTHIER et al., 1983; BYSTROM et al., 1985; FERRAREZI & ITO, 1990; STUART et al., 1990; GENCIGLU & KULEKCI, 1992), *Streptococcus faecalis* (WINKLER, 1959; MEJARÉ, 1975; FERREIRA et al., 1978; HARRISON & HAND, 1981; ROTHIER et al., 1983; STEVENS & GROSMAN, 1983; BYSTROM et al., 1985; TRONSTAD et al., 1987; ALLARD et al., 1987; ORSTAVIK & HAAPASALO, 1990; SOUZA et al., 1992; ESTRELA et al., 1995, 1996, 1997), *Staphylococcus aureus* (ZERLOTTI, 1959; ROTHIER et al., 1983; FERRAREZI & ITO, 1990; ESTRELA et al., 1997), *Pseudomonas aeruginosa* (ROTHIER et al., 1983; TRONSTAD et al., 1987; RANTA et al., 1988; BARNETT et al., 1988;

ORSTAVIK & HAAPASALO, 1990; FERRAREZI & ITO, 1990; ESTRELA et al., 1995, 1996, 1997), *Bacillus subtilis* (ROTHIER et al., 1983; BARBOSA & ALMEIDA, 1987; ESTRELA et al., 1997), *Candida albicans* (ZERLOTTI, 1959; ROTHIER et al., 1983; BARBOSA & ALMEIDA, 1987; FERRAREZI & ITO, 1990; SOUZA et al., 1992; TRONSTAD et al., 1990).

Especificamente, entre os fatores relativos ao meio de cultura, pode-se salientar que os meios empregados suportam as exigências nutritivas de microrganismos exigentes, portanto são empregados para estas avaliações (MEJARÉ, 1974, 1975; BURNETT & SCHUSTER, 1982; STEVENS & GROSMAN, 1983; SLOTS & TAUBMAN, 1992; NISENGARD & NEWMAN, 1994; SIQUEIRA & UZEDA, 1996; ESTRELA et al., 1997).

As associações entre as espécies microbianas presentes em canais radiculares infectados, em função das condições ecológicas - potencial Eh, disponibilidade de nutrientes, produção de bacteriocinas e fenômenos de agregação, em conjunto com a perda de defesa, após a necrose pulpar, que beneficia as interações e proporciona um ambiente favorável aos microrganismos, propicia as infecções mistas, polimicrobianas, predominantemente por microrganismos anaeróbios. As espécies anaeróbias predominantes são: *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Porphyromonas* e *Fusobacterium* (FABRICIUS et al., 1982; SLOTS & TAUBMAN, 1990; SUNDQVIST, 1992; NAIR, 1990, 1997). Os microrganismos aeróbios facultativos tem sido evidenciados nas infecções endodônticas persistentes, sendo que além da viabilidade em meios com variações de oxigênio, alguns microrganismos resistem a pH elevado, como o *Streptococcus faecalis* e a *Pseudomonas aeruginosa*, que suportam pH em torno de 9,0 (FABRICIUS et al., 1982; HAAPASALO & ORSTAVIK, 1987; BARNETT et al., 1988; SAFAVI et al., 1990; TROSNTAD, 1991, 1992).

BYSTROM et al. (1985), a partir de métodos bacteriológicos, compararam o hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado e fenol canforado, no tratamento de canais radiculares infectados, e demonstraram a superioridade do hidróxido de cálcio sobre o paramonoclorofenol canforado.

No entanto, alguns trabalhos relatam que o hidróxido de cálcio mostrou-se pouco efetivo sobre o *Streptococcus faecalis* (STEVENS & GROSSMAN, 1983; HAAPASALO & ORSTAVIK, 1987; SAFAVI et al., 1990; SIQUEIRA et al., 1996), enquanto outros destacam sua eficácia, tanto para essa bactéria, como para a *Pseudomonas aeruginosa* (ALLARD et al., 1987; RANTA et al., 1988; SMITH et al., 1984; ESTRELA et al., 1995, 1997).

Em decorrência desses questionamentos alguns autores (FRANK, 1966; MARTINS et al., 1979; LEONARDO et al., 1991, 1993) sugerem o acréscimo do paramonoclorofenol canforado ao hidróxido de cálcio, no intuito de melhorar a ação sobre os microrganismos aeróbios, uma vez que se acreditava que o hidróxido de cálcio tinha efeito somente sobre os anaeróbios.

É oportuno lembrar que, a partir da tentativa de explicação do mecanismo antimicrobiano do hidróxido de cálcio, se observa, como alvo vulnerável às alterações de pH, as enzimas presentes na membrana citoplasmática, que podem ser levadas à inativação, reversível ou irreversível, quando considerados microrganismos anaeróbios e aeróbios. É claro que o efeito antimicrobiano depende da velocidade de liberação de íons hidroxila, do tempo de contato de ação direto ou indireto (difusibilidade destes íons hidroxila no interior dos túbulos dentinários), para que possam expressar seu real efeito controlador sobre os microrganismos (ESTRELA et al., 1994).

Os veículos que vem sendo utilizados nas pastas de hidróxido de cálcio deveriam influenciar a velocidade de dissociação iônica favorecendo sua penetrabilidade e ou interagindo, potencializando seu reconhecido poder antimicrobiano. Entre as características químicas, os veículos apresentam-se como hidrossolúveis (aquosos - soro fisiológico, água destilada, solução anestésica; e viscosos - polietileno glicol, propileno glicol, metil celulose) e não hidrossolúveis (oleosos - paramonoclorofenol canforado, óleo de oliva, lipiodol).

Um dos fatores polêmicos na escolha do veículo, que tem deixado dúvidas quanto a ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio, talvez seja a associação com veículos hidrossolúveis (água destilada ou soro fisiológico), quando comparado ao paramonoclorofenol canforado (veículo oleoso).

No entanto, importa analisar algumas considerações acerca do paramonoclorofenol canforado. BIRAL et al. (1982), estudando comparativamente a atividade antimicrobiana do paramonoclorofenol canforado, da solução de iodeto de potássio iodetada a 2% e do formocresol, observaram que, nos testes de ação indireta, através de vapores, em condições clínicas simuladas, sobre algumas bactérias (entre elas o *Streptococcus faecalis*), o paramonoclorofenol canforado foi ineficaz, sendo sua atividade evidenciada apenas perante a *Pseudomonas aeruginosa*. O teste de difusibilidade pela dentina mostrou que o paramonoclorofenol canforado não registrou qualquer capacidade de penetração. Esses resultados estão coerentes com os obtidos por MIRANDA (1969), que relatou que o *Streptococcus faecalis* e outros microrganismos

mostraram-se resistentes a agentes medicamentosos (antibióticos, detergentes e o paramonoclorofenol canforado). Outros trabalhos afirmam que o paramonoclorofenol canforado é ineficaz por ação indireta através de vapores, com ausência de ação à distância, atuando mais por contato direto (KURODA, 1926; CWIKLA, 1972; VANTULOK & BROWN, 1972; SOUZA et al., 1978; BIRAL et al., 1982).

O paramonoclorofenol canforado é constituído por uma mistura líquida, oriunda da combinação do paramonoclorofenol com a cânfora, em partes variáveis, 25 a 35% de paramonoclorofenol e 65 a 75% de cânfora. O paramonoclorofenol apresenta-se sob a forma de cristais e possui odor fenólico característico. A cânfora é, quimicamente, uma cetona terpênica bicíclica, derivada do canfeno e obtida da canforeira, árvore da família das lauráceas. Apresenta-se sob a forma de cristais incolores ou massas cristalinas friáveis e translúcidas, untuosas ao tato; tem odor penetrante, característico, e sabor amargo; é uma substância aromática, muito pouco solúvel em água (1:800). Dessa forma, o paramonoclorofenol canforado, quando empregado em associação ao hidróxido de cálcio, funciona como veículo oleoso, em razão da cânfora ser considerada um óleo essencial e apresentar baixa solubilidade em água (LOPES et al., 1996). PUCCI (1942) acrescentou que a cânfora dissolvente que serve de veículo oleoso, neutraliza a ação irritante do paramonoclorofenol.

Como o paramonoclorofenol canforado apresenta características químicas oleosas, torna-se difícil imaginar que este medicamento apresente com baixa tensão superficial, o que favoreceria a capacidade de penetração nos túbulos e ramificações dentinárias, a não ser que apresentasse elevada ação volátil, fato este não demonstrado por alguns trabalhos (KURODA, 1926; CWIKLA, 1972; VANTULOK & BROWN, 1972; SOUZA et al., 1978; BIRAL et al., 1982).

HARRISON & MADONIA (1971), comparando a toxicidade de concentrações reduzidas de paramonoclorofenol aquoso com paramonoclorofenol canforado, concluíram que o aquoso provoca resposta inflamatória bastante moderada, enquanto o canforado é altamente tóxico, sendo capaz de provocar necrose tecidual. Além deste fato, a penetração do aquoso é muito maior que a do canforado. Outros trabalhos também confirmaram a toxicidade deste medicamento (HOLLAND et al., 1969, 1978; SPANGBERG et al., 1973, 1979; MARTINS et al., 1979; FAGER & MESSER, 1986; SOEKANTO et al., 1996).

SOUZA et al. (1978) analisaram o emprego de medicamentos no interior dos canais radiculares sobre microrganismos presentes em canais radiculares infectados, quanto a ação tópica, e à distância de algumas preparações, entre as quais o tricresol formalina, o paramonoclorofenol canforado, o paramonoclorofenol associado ao Furacin^â e o creosoto de faia. A análise dos resultados mostrou que o paramonoclorofenol canforado, o paramonoclorofenol associado ao Furacin^â e o creosoto de faia foram eficazes por ação antimicrobiana apenas por contato.

A efetividade antimicrobiana frente a vários microrganismos encontrados em canais radiculares infectados foi demonstrada por ZERLOTTI (1959) com a associação de paramonoclorofenol e Furacin^â, na relação 10 g em 28 mL. HOLLAND et al. (1969, 1976, 1978) e SOUZA et al. (1978) estudaram as propriedades da metade da dose de paramonoclorofenol proposta por ZERLOTTI (1959). Os testes bacteriológicos realizados em placas de Petri, demonstraram que o poder bactericida desta nova proporção foi ligeiramente menor, porém o halo de inibição do crescimento bacteriano ainda continuou superior ao produzido pelo paramonoclorofenol canforado. Por outro lado, o poder de irritação, com a diminuição do paramonoclorofenol, foi sensivelmente reduzido, tanto nos testes em nível dos tecidos periapicais, quanto na conjuntiva de olho de coelho. Dessa maneira, os autores propõem a seguinte fórmula: 5 g de paramonoclorofenol para 28 mL de Furacin^â Oto-solução. A nitrofurazona, princípio ativo do Furacin^â, é um derivado dos nitrofuranos com atividade bactericida contra a maioria dos patógenos causadores de infecções superficiais, incluindo o *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Aerobacter aerogenes* e *Proteus*, sendo responsável por inibir um número de enzimas bacterianas, especialmente as envolvidas na degradação anaeróbia e aeróbia da glicose e no metabolismo do piruvato. Apesar do Furacin^â inibir uma variedade de enzimas, ele não é considerado um inativador enzimático (ZERLOTTI, 1959).

Além do mais, HOLLAND (1994) verificou várias vantagens do Furacin^â quando comparado à cânfora associado ao paramonoclorofenol, como hidrossolubilidade, a menor irritabilidade, o maior poder bactericida e o maior poder de penetração.

Em testes de penetrabilidade em túbulos dentinários, BIRAL et al. (1982), demonstraram a superioridade do paramonoclorofenol associado ao furacin comparada à do paramonoclorofenol

canforado, capaz de atuar por ação indireta e em profundidade de até 0,5 mm na dentina, inibindo o crescimento de *S. aureus*.

Ao comparar a ação antibacteriana da pasta aquosa de hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol aquoso a 1% e mistura de ambos, por 48 e 72 horas, MARTINS et al. (1979), observaram sem significado estatístico, melhores respostas com a mistura pastosa de hidróxido de cálcio e paramonoclorofenol aquoso a 1%, seguidas da pasta de hidróxido de cálcio e por último do paramonoclorofenol aquoso a 1%.

Outro veículo testado na pasta de hidróxido de cálcio foi a Clorexidina a 1%, por ser uma substância antimicrobiana, atualmente de elevado uso clínico e baixa toxicidade. Seu maior emprego está relacionado à prevenção da placa dental, determinante envolvido na etiopatogenia da cárie e doença periodontal (ROLLA et al., 1971; YEUNG et al., 1983; ADDY & LANGERONDI, 1984; GREENSTEIN et al., 1986; VILLALPANDO & TOLEDO, 1997).

O emprego, em Endodontia, da Clorexidina tem sido como substância irrigadora e como medicação intracanal (HELING et al., 1992; OHARA et al., 1993; SIQUEIRA & UZEDA, 1997; BARBOSA et al., 1997).

A Clorexidina constitui-se de molécula catiônica que ao se unir a compostos aniônicos, como sulfatos livres, radicais fosfatos e carboxílicos da película e glicoproteínas salivares, promove redução na adsorção de proteínas à superfície dentária que é requerida para a formação da película adquirida. Em virtude de sua

natureza altamente catiônica, apresenta elevada afinidade pela parede celular bacteriana, alterando as estruturas da superfície dessa parede. Consequentemente, o equilíbrio osmótico é perdido, a membrana citoplasmática fica extruída, havendo formação de vesículas e precipitação do citoplasma, com alteração no equilíbrio osmótico celular. Estas precipitações inibem o reparo da parede celular, fazendo com que as bactérias não se recuperem (ROLLA & MELSER, 1975; LINDHE, 1992).

A escolha do veículo composto pela solução de lauril sulfato de sódio a 3%, partiu do referencial de sua influência no abaixamento da tensão superficial, o que poderia influenciar em sua difusão através da membrana da célula bacteriana, bem como no número de moléculas que entrariam em contato com esta membrana (ZERLOTTI, 1959). FEIRER & LEONARD (1927) reportaram que a diminuição da tensão superficial determina uma maior difusão do medicamento através da membrana celular das bactérias, aumentando, consequentemente, seu poder

bactericida. Provavelmente, em decorrência destes fatores, BARBOSA & ALMEIDA (1987) sugeriram a associação de 20% de detergente (lauril-dietileno-glicol éter sulfato de sódio - Tergitol^â) com hidróxido de cálcio, como solução irrigadora para canais radiculares de dentes humanos. É oportuno lembrar que detergentes e sabões podem se apresentar com contaminação microbiana e são desprovidos de efeitos antimicrobianos (NAGEM FILHO & VIEIRA PINTO, 1978).

O emprego do Otosporin^â, como veículo, foi devido ao fato de se conhecer o efeito antimicrobiano, por contato direto, da sua associação com o hidróxido de cálcio, a partir do princípio que poderia ser benéfica a reunião dos efeitos antiinflamatório e antimicrobiano de seus componentes.

Um fator importante, que deve ser considerado, foi o emprego isolado de uma medicação intracanal sem a presença do hidróxido de cálcio, estabelecendo outro parâmetro de atividade antimicrobiana, como foi o caso do paramonoclorofenol - 5g associado a 28 mL de Furacin^â, conforme proposto por HOLLAND et al. (1978).

O emprego isolado do soro fisiológico e do Ágar-ágar, possibilitou analisar a viabilidade dos microrganismos nos diferentes períodos analisados, servindo como dois grupos de controle do experimento.

É prudente ressaltar e estar consciente que todo o raciocínio que está se discutindo vale para o experimento realizado laboratorialmente (in vitro), com condições ambientais específicas para estes microrganismos, o que torna importante outras avaliações complementares e clínicas (in vivo). Os resultados obtidos neste experimento permitiram conclusões importantes que proporcionarão o desenvolvimento de novas pesquisas buscando respostas, mais amplas e mais profundas, aos questionamentos levantados.

Frente a análise dos resultados, observa-se que o paramonoclorofenol - 5g associado a 28 mL de Furacin^â, na fórmula proposta por HOLLAND et al. (1978), mostrou inibir o crescimento de todos os microrganismos testados (*S. mutans*, *S. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans*), inclusive a mistura destes, atuando por contato direto em todos os intervalos de tempo (1 minuto, 48, 72 horas e 7 dias).

Embora valendo-se de outra metodologia e diferentes períodos de tempo, estes resultados estão de acordo com os resultados observados por SOUZA et al. (1978), que mostraram que esta medicação é dotada de eficaz ação antimicrobiana por contato direto. Está, também, de acordo

com os resultados obtidos por ZERLOTTI (1959), quando demonstrou sua acentuada atividade antimicrobiana quando atuando sobre a microbiota de canais radiculares infectados.

A pasta de hidróxido de cálcio, acrescida de paramonoclorofenol com Furacin^â demonstrou efetividade por contato direto em 1 minuto sobre os microrganismos *S. mutans*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans*, e, em 48 horas sobre o *S. faecalis* e a mistura microbiana.

A pasta de hidróxido de cálcio contendo Flagyl^â e soro fisiológico, mostrou-se efetiva por contato direto, controlando em 1 minuto somente o *B. subtilis*. Os microrganismos *S. faecalis*, *S. aureus*, *C. albicans* e a mistura destes foram inativados após 48 horas, enquanto o *S. mutans* e a *P. aeruginosa* após 72 horas de contato direto. Este grupo comparado aos demais, foi o que apresentou os resultados mais desanimadores. Em um ambiente contendo microbiota mista, como é a de um canal radicular infectado, não se justifica o emprego de medicação específica para anaeróbios, pois existem fatores contraditórios ao uso nestas circunstâncias, sendo estes constituídos por: desconhecimento da capacidade de difusão da medicação; sua eficácia em relação ao pH da pasta, que é elevado; sua ação específica para anaeróbios, sabendo-se das interações microbianas existentes; a possibilidade de desencadear resistência microbiana. Deve-se lembrar que a proporção de pó de hidróxido de cálcio neste grupo foi menor devido à proporção utilizada de Flagyl^â. Assim, não se observam razões que suportem a indicação para seu emprego, como medicação intracanal, nos canais radiculares infectados.

A pasta de hidróxido de cálcio com solução de lauril sulfato de sódio a 3% demonstrou atividade antimicrobiana por contato direto em 1 minuto sobre o *S. mutans*, enquanto, para os demais microrganismos, somente foi efetiva no segundo período de observação, 48 horas.

BARBOSA & ALMEIDA (1987), analisando a associação a 10% e 20% de hidróxido de cálcio e detergente, empregado solução irrigadora sobre diferentes microrganismos "in vitro", relataram que 30 minutos é o tempo máximo ideal para a atividade antimicrobiana destas soluções.

A pasta, cujo veículo foi o soro fisiológico, mostrou-se efetiva sobre o *S. mutans* e a *P. aeruginosa* no tempo de 1 minuto, sobre o *S. faecalis*, *S. aureus*, *C. albicans* e a mistura, após o segundo período de observação, 48 horas, e sobre o *B. subtilis* após o terceiro período de observação, 72 horas.

O Calen^â com paramonoclorofenol canforado por contato direto, em 1 minuto, demonstrou efetividade sobre o *S. mutans* e o *S. faecalis*, enquanto o *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans* e a mistura, a atividade antimicrobiana foi observada somente após 48 horas.

O hidróxido de cálcio, associado a solução de paramonoclorofenol a 1% demonstrou atividade antimicrobiana contra o *S. mutans*, *B. subtilis* e *C. albicans* em 1 minuto, enquanto, para o *S. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e a mistura, este potencial foi detectado após 48 horas de exposição.

No grupo, cujo veículo foi a Clorexidina a 1%, o *S. mutans*, *S. aureus*, *C. albicans* e a mistura foram inativados em 1 minuto de contato direto com a pasta, e o *S. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, se mostraram mais resistentes, pois somente foram controlados após 48 horas de exposição.

A associação do Otosporin^â ao hidróxido de cálcio demonstrou efetividade antimicrobiana por contato direto em 1 minuto sobre o *S. mutans*, *S. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, e em 48 horas sobre a *C. albicans* e a mistura.

Nos grupos controles, soro fisiológico e Ágar-ágar, a *P. aeruginosa*, o *B. subtilis*, a *C. albicans* e a mistura, mantiveram-se viáveis em todos períodos experimentais. O *S. faecalis* e o *S. aureus* permaneceram viáveis até 72 horas, enquanto o *S. mutans* até 48 horas. Nenhum dos resultados dos grupos controles interferiu negativamente nos resultados alcançados, ou seja, diante dos períodos analisados em que as pastas se mostraram efetivas os microrganismos permaneceram viáveis.

Em face dos resultados encontrados, embora in vitro, mas podendo-se extrapolar para aferições in vivo, considerando os microrganismos indicadores estudados, questionamentos importantes, quanto ao veículo ideal para se associar à pasta de hidróxido de cálcio, e ao tempo necessário para determinar efeito letal por contato direto, devem ser considerados a partir deste trabalho.

Ao se estabelecer um paralelo do efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio com o do hipoclorito de sódio em função do tempo de contato direto, notou-se resultados interessantes.

HARRISON & HAND (1981) analisaram o efeito da diluição e da presença de matéria orgânica sobre a propriedade antibacteriana do hipoclorito de sódio a 0,5%, 1%, 2,5% e 5,25%. Segundo o protocolo, foram contaminados cones de papel absorvente com o *S. faecalis* e

expostos em intervalos de tempo de 5, 10, 30, 45, 60 e 90 segundos e 2, 5 e 15 minutos nas concentrações de hipoclorito de sódio anteriormente referenciadas. Decorrido o período de exposição nas soluções, os cones de papel absorventes foram colocados em meio de cultura contendo caldo de soja e incubadas para avaliação da presença de crescimento bacteriano. Nessas condições experimentais, o hipoclorito de sódio a 1% mostrou-se efetivo antimicrobiano sobre o *S. faecalis* em 5 minutos de contato direto, como mostra a Tabela 11. A presença de matéria orgânica reduziu o poder antibacteriano.

Tabela 11. Efeito antibacteriano do hipoclorito de sódio em função do tempo de contato

Tempo de Exposição	NaOCl 5,25%	NaOCl 2,5%	NaOCl 1,0%	NaOCl 0,5%
5 segundos	+	+	+	+
10 segundos	+	+	+	+
30 segundos	+	+	+	+
45 segundos	-	+	+	+
60 segundos	-	+	+	+
90 segundos	-	+	+	+
2 minutos	-	-	+	+
5 minutos	-	-	-	+
15 minutos	-	-	-	-

SOUZA et al. (1992) ,estudando a ação antimicrobiana por contato direto do hipoclorito de sódio a 0.5% e 1.0% , sobre o *S. faecalis* e a *C. albicans*, verificaram que a partir de 15 segundos o hipoclorito de sódio, nas concentrações referenciadas, mostraram-se totalmente efetivos.

Observa-se, todavia, que durante o preparo químico-mecânico se estabelece expressiva redução dos microrganismos na luz do canal radicular, aumentado esta ação antimicrobiana quando da utilização da medicação intracanal.

A importância da comparação de medicações intracanaís, constituídas por pastas de hidróxido de cálcio associadas a diferentes veículos e por medicações intracanaís sem hidróxido de cálcio, deve-se ao fato de ser assunto que não traduz consenso de seleção e uso geral, sendo extensivamente polêmico. Toda tentativa para elucidar algumas dúvidas existentes é válida e

possibilita contribuições, embora, também traga novas dúvidas e questionamentos. A busca de uma solução pode conduzir a muitas perguntas, algumas sem respostas para o momento.

O hidróxido de cálcio é uma excelente medicação intracanal, englobando duas propriedades enzimáticas essenciais, com efeitos antimicrobianos e biológicos. Em função do desconhecimento de seu provável mecanismo de ação, foram sugeridas algumas associações, constituídas por substâncias antimicrobianas, como forma de melhorar as propriedades que lhe são intrínsecas.

Como exemplo, pode-se referenciar o emprego do paramonoclororfenol canforado, veículo para a pasta de hidróxido de cálcio, proposto em diferentes trabalhos (FRANK, 1966; DIFIORE et al., 1983; OLETO & MELO, 1984/1985; MARTINS et al., 1979; LEONARDO et al., 1991, 1993; SIQUEIRA et al., 1996, 1997). A explicação para tal fato, teve como justificativa a maior efetividade da referida associação sobre os anaeróbios e aeróbios, relacionada, respectivamente ao papel biológico do hidróxido de cálcio e paramonoclorofenol canforado. E, também, em decorrência de trabalhos que mostraram efeitos inibitórios melhores para o hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado quando comparado ao soro fisiológico ou água destilada, analisado por meio de métodos de difusão em ágar, que talvez, não constitua no melhor método para estudo comparativo destas medicações.

O raciocínio deve caminhar em outro sentido. No primeiro momento, ao se discutir medicação intracanal, deve-se conhecer o mecanismo de ação do que se pretende analisar como medicação. O hidróxido de cálcio atua contra todos os tipos respiratórios de microrganismos (aeróbios, microaerófilos e anaeróbios), inativando sistemas enzimáticos presentes na membrana citoplasmática, com a subsequente alteração de mecanismos biológicos dependentes da membrana, promovendo efeitos tóxicos e lesivos às células microbianas (ESTRELA et al., 1994, 1995). No entanto, para que o efeito seja letal torna-se necessário que a medicação tenha tempo hábil de ação para expressar sua efetividade antimicrobiana, e seja capaz de atuar à distância.

Por conseguinte, a tentativa de explicação do mecanismo de ação do hidróxido de cálcio através de seu pH alcalino, no controle da atividade enzimática microbiana, possibilitou que ESTRELA et al. (1994) levantassem a hipótese de haver uma inativação enzimática bacteriana reversível e irreversível, dependendo justamente do tempo necessário para que este fármaco inative os microrganismos. Esta hipótese foi estudada em dois experimentos. A inativação enzimática irreversível bacteriana foi demonstrada ao determinar o efeito antimicrobiano direto

do hidróxido de cálcio sobre diferentes microrganismos, onde se verificou que o efeito letal ocorreu, em média, em torno de 72 horas (ESTRELA et al., 1997), enquanto a inativação enzimática reversível pode ser observada avaliando-se o efeito antimicrobiano indireto do hidróxido de cálcio em túbulos dentinários infectados por diferentes microrganismos, registrando a sua inefetividade no período de 7 dias (ESTRELA et al., 1997). Esses resultados sugerem que o contato direto permite inferir conclusões diferentes, porém somatórias, daquelas observadas pelo contato indireto. Para que a medicação intracanal seja eficaz dentro dos túbulos dentinários é imprescindível que a substância atue à distância e de modo prolongado. Assim, a penetrabilidade dentinária da pasta de hidróxido de cálcio e o período prolongado de ação, o destaca entre outras medicações intracanaís.

Deve-se ressaltar que é importante avaliar medicações intracanaís por metodologias diferentes, que permitam estabelecer parâmetros similares para a atuação destas substâncias antimicrobianas. O modelo experimental utilizado na presente pesquisa, permite uma análise mais precisa do que a comparação por medidas de halos de inibição de crescimento microbiano, em testes de difusão em ágar, devido às dificuldades de difusão que determinadas substâncias demonstraram ter no ágar, não favorecendo demonstrar seu real efeito antimicrobiano.

ESTRELA et al. (1995) compararam o efeito antimicrobiano da pasta de hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico e pasta de hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado, sobre *S. faecalis*, *P. aeruginosa* e *E. coli*, em 24 e 48 horas, através de teste de difusão em ágar. Os resultados demonstraram que as duas medicações mostraram-se efetivas sobre as bactérias analisadas, tanto em 24 como 48 horas, sendo que o grupo do paramonoclorofenol canforado determinou um maior halo de inibição de crescimento bacteriano.

O que precisa ser realçado é que quanto maior a velocidade de dissociação e difusão de íons hidroxila, maior o efeito antimicrobiano. Portanto, a escolha do modelo experimental também é fundamental em relação a essa variável, uma vez que ele pode influenciar na dinâmica da dissociação e difusão de íons hidroxila.

As críticas de que a pasta de hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico ou água destilada seja inefetiva contra microrganismos aeróbios facultativos (principalmente o *S. faecalis* e a *P. aeruginosa*), devem ser revistas. Necessita-se avaliar bem o tempo para que esta medicação possa demonstrar sua efetividade, e o método pelo qual tem sido comparado a outras pastas. Por

exemplo, em testes de difusão em ágar, as respostas não são favoráveis quando se utiliza hidróxido de cálcio acrescido a veículo hidrossolúvel como o soro fisiológico ou a água destilada, dado à dificuldade e limitação de sua difusão na superfície do meio sólido.

DIFIORI et al. (1983), estudando o efeito antimicrobiano de pastas de hidróxido de cálcio empregadas em apicificação, relataram que o tamanho do halo de inibição não reflete seu poder antimicrobiano, uma vez que este tamanho pode sofrer influência do tamanho da molécula da substância e de sua constante de difusão, podendo ou não difundir adequadamente no meio de cultura utilizado.

Frente à análise de alguns trabalhos que utilizaram métodos de difusão em ágar, mostrando que o hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado promoveu maior halo de inibição de crescimento microbiano que a pasta contendo soro fisiológico como veículo (ESTRELA et al., 1995), deve-se frisar que o diâmetro do halo de inibição pode não expressar com segurança o potencial antimicrobiano, como discutido neste trabalho. Em outra análise, ESTRELA et al. (1995), estudando a ação antibacteriana de três cimentos obturadores contendo hidróxido de cálcio (Apexit[®], Sealapex[®] e Sealer 26[®]), cujo pH dos cimentos é superior a 10, não foi verificado, em nenhum dos microrganismos (*S. faecalis*, *P. aeruginosa* e *E. coli*) halos de inibição de crescimento, o que não significa dizer que os cimentos sejam destituídos de efeito antimicrobiano, mas pode significar a dificuldade de difusão de íons hidroxila. Porém, ao trocar o método utilizado, trabalhando em tubos de ensaio contendo caldo BHI, os resultados foram diferentes (ESTRELA et al., 1997).

O método de avaliação através de testes de difusão em ágar tem sua validade e é bastante utilizado em microbiologia, porém, parece não estabelecer parâmetros de confiabilidade para se compararem determinadas substâncias, como as pastas de hidróxido de cálcio, com diferentes capacidades de difusibilidade no ágar. O método não é incorreto, o problema é que é menos preciso para este tipo de análise comparativa.

BARBOSA et al. (1997) avaliaram a atividade antibacteriana do hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado e clorexidina como medicação intracanal, mediante estudo clínico e laboratorial. Os resultados laboratoriais, através de teste de difusão em ágar, mostraram que o hidróxido de cálcio foi totalmente inefetivo sobre os microrganismos analisados, que são comumente encontrados em canais radiculares infectados, enquanto as outras substâncias (paramonoclorofenol canforado e clorexidina) demonstraram os melhores resultados,

respectivamente. Os resultados clínicos evidenciaram que, após 7 dias, 73,3% dos testes bacteriológicos foram de culturas negativas para o grupo do hidróxido de cálcio, 77,8% para a clorexidina e 69,2% para o paramonoclorofenol canforado.

Esta avaliação realça a necessidade de uma análise crítica quanto ao método experimental de avaliação, quando se compara substâncias que atuam por meio de difusibilidade.

Os resultados obtidos nesta pesquisa demonstraram que, por contato direto, a efetividade antimicrobiana do Calen[®] com PMCC e da pasta de hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico, praticamente, foi a mesma. A diferença verificada foi que a pasta de hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico eliminou, em 1 minuto de contato direto, a *P. aeruginosa*, e o Calen[®] com PMCC somente foi ativo em 48 horas, enquanto o Calen[®] com PMCC mostrou-se efetivo sobre o *S. faecalis* em 1 minuto, e a pasta de hidróxido de cálcio somente em 48 horas.

Estes resultados, praticamente, foram semelhantes e estão de acordo com os obtidos por SOUZA et al. (1989), quando trataram dentes humanos com lesões periapicais e observaram que os tratamentos, efetuados com as pastas de hidróxido de cálcio e água destilada, e hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado e glicerina, conduziram a resultados clínico-radiográficos similares.

Isto posto, deve-se admitir que, diante da lenta velocidade de dissociação iônica, demonstrada por veículos oleosos, como o paramonoclorofenol canforado, e a maior liberação de íons hidroxila, mostrada por veículos hidrossolúveis, como o soro fisiológico ou a água destilada, como medicação intracanal de rotina, por períodos superiores a 7 dias, a preferência recai na utilização de veículos hidrossolúveis. Além do mais, por contato direto, os resultados entre os veículos referenciados acima, mostraram-se poucas diferenças, sendo que a maior facilidade de eliminação de microrganismos no interior dos túbulos dentinários, é decorrente da maior velocidade de dissociação e difusão iônica, que ocorre nos veículos hidrossolúveis.

Respalhando essas conclusões é pertinente lembrar que, HOLLAND et al. (1993) avaliaram o efeito de curativos de demora hidrossolúveis e não hidrossolúveis no processo de reparo de dentes de cães com lesão periapical. Os curativos de demora utilizados foram o hidróxido de cálcio associado ao soro fisiológico e o hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado (pasta de Frank). Decorridos seis meses da obturação dos canais radiculares, os autores observaram maiores índices de reparação quando do emprego do curativo de demora com a pasta aquosa contendo soro fisiológico.

Aliás, é necessário admitir que durante o preparo químico-mecânico, a instrumentação com irrigação-aspiração à base de hipoclorito de sódio, promove significativo controle dos microrganismos presentes nos canais radiculares infectados. SJOGREN et al. (1991) observaram que no período de 7 dias o emprego de medicação com pasta de hidróxido de cálcio eliminou microrganismos que sobreviveram por 10 minutos. SYDNEY & ESTRELA (1996) verificaram que o recurso exclusivo do preparo químico-mecânico, mesmo empregando-se o hipoclorito de sódio como substância irrigadora, não promoveu eliminação completa dos microrganismos presentes em canais radiculares infectados de dentes humanos. SYDNEY (1996) notou, após 7 dias de permanência da pasta de hidróxido de cálcio em canais radiculares infectados de dentes humanos, redução de 77,8% de microrganismos presentes. ESTRELA et al. (1997) destacaram que o fator determinante da atividade antimicrobiana da pasta de hidróxido de cálcio, no interior dos túbulos e ramificações dentinárias, é a quantidade liberada de íons hidroxila, como ocorre com os veículos hidrossolúveis, e que, em 7 dias, os microrganismos permaneceram viáveis em túbulos dentinários infectados. BARBOSA et al. (1997) encontraram, em resultados clínicos, 73,3% de culturas negativas obtidas após testes bacteriológicos de amostras de canais infectados de dentes de humanos, após a permanência, por 7 dias, da pasta de hidróxido de cálcio com soro fisiológico. Outrossim, o tempo é fundamental para que a medicação intracanal possa exercer sua completa atividade, atuando à distância no interior dos túbulos dentinários e por período prolongado, não apenas com vistas a um efeito antimicrobiano, mas também frente à necessidade de atuar contra reabsorções dentinárias radiculares.

Além do mais, o efeito prolongado favorece não unicamente a destruição dos microrganismos, mas, também, a neutralização do efeito residual do lipopolissacarídeo de bactérias Gram negativas destruídas, como demonstrado por SAFAVI & NICHOLLS (1993).

Um fato que chamou a atenção, entre os resultados obtidos na presente pesquisa, foi ao comparar o efeito dos veículos empregados nas pastas de hidróxido de cálcio, nos períodos experimentais (1 minuto, 48, 72 horas e 7 dias), detectar ausência de aumento do poder antimicrobiano que o hidróxido de cálcio já apresenta. No que diz respeito ao efeito biológico, a preferência recai em um veículo inerte e não agressivo aos tecidos periapicais, como o soro fisiológico, a água destilada ou até, um veículo viscoso como o propileno glicol, vindo ao encontro ao discutido para a conquista do controle antimicrobiano.

Desta forma, ficou marcante entre os veículos, a importância das características químicas (hidrossolúvel ou oleoso) no que concerne ao poder antimicrobiano, por influenciar na velocidade de dissociação e difusão iônica.

Embora o veículo constituído pela solução de Lauril sulfato de sódio a 3%, um detergente que apresenta baixa tensão superficial, pudesse acelerar a efetividade antimicrobiana, influenciando a difusão do medicamento através de estruturas limítrofes, sua efetividade, comparada a outros veículos, como o soro fisiológico, não foi significativa. A pasta com o detergente controlou em 1 minuto o *S. mutans*, enquanto a que continha o soro fisiológico, além deste inativou no mesmo período de tempo, a *P. aeruginosa*. Nos demais períodos os resultados foram iguais.

Estes resultados denotam que a capacidade antimicrobiana presente na pasta de hidróxido de cálcio, decorrente da elevada liberação de íons hidroxila, o que está diretamente relacionada às suas características químicas (dissociação iônica e difusibilidade), sendo o veículo um coadjuvante no processo antimicrobiano. É certo que quanto maior a liberação iônica, maior a rapidez de atuação. ESTRELA & PESCE (1996), estudando quimicamente pastas de hidróxido de cálcio com diferentes características ácido-base, não observaram resultados significativamente diferentes frente à liberação de íons hidroxila e íons cálcio, quando do emprego da solução anestésica (considerada como veículo de características ácidas), comparada com o soro fisiológico (veículo neutro).

Importa considerar ainda que, para a pasta de hidróxido de cálcio desempenhar suas propriedades, é necessário que seja bem colocada no interior do canal radicular preparado, preenchendo-o completamente.

Com vistas à aplicação clínica em canais radiculares infectados com ou sem periodontite apical, em que a medicação intracanal irá permanecer por período inferior a 7 dias, nota-se que a solução de paramonoclorofenol - 5g associados a 28 mL de Furacin^â (HOLLAND et al., 1978) mostra-se como a melhor opção, enquanto, naquelas situações, cuja medicação intracanal for mantida por mais de 7 dias, a melhor escolha recai na pasta de hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico.

Todavia, é importante a realização de novas pesquisas para se elucidar algumas dúvidas que ainda permanecem, entre estas, o período de tempo em que o paramonoclorofenol, associado ao Furacin^â, permanece em atuação na luz do canal radicular e interior dos túbulos e

ramificações dentinárias, bem como o tempo ideal para que o hidróxido de cálcio associado ao soro fisiológico possa eliminar completamente os microrganismos presentes nestas áreas.

É oportuno salientar que a efetividade antimicrobiana conferida pela medicação intracanal, proporciona aumento expressivo do índice de sucesso para o tratamento de dentes necrosados, com ou sem periodontite apical.

A presença de infecções extrarradiculares, de bactérias nos biofilmes apicais, demonstra a resistência bacteriana aos tratamentos endodônticos, possibilitando lesões endodônticas refratárias. O estabelecimento de biofilmes apicais, denotando a presença e a interação entre microrganismos de elevada virulência, resistentes à terapia antimicrobiana, em conjunto com situações de pacientes com baixa resistência orgânica, influencia negativamente no prognóstico favorável do tratamento endodôntico (TRONSTAD et al., 1987, 1990; ANWAR et al., 1990, 1992).

A partir do momento que o raciocínio sinaliza para a definição da efetividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio, o veículo assume um papel de coadjuvante neste processo, conferindo-lhe características químicas (dissociação, difusibilidade e preenchimento) decisivas ao potencial antimicrobiano e capacidade de reparação tecidual.

7 Conclusões

Nas presentes condições experimentais, é lícito concluir que:

01. O paramonoclorofenol - 5g /28 mL de Furacin^â mostrou inibir o crescimento de todos os microrganismos testados (*S. mutans*, *S. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans*), inclusive da mistura destes, atuando por contato direto em todos os intervalos de tempo (1 minuto, 48, 72 horas e 7 dias).
02. A pasta de hidróxido de cálcio acrescida de paramonoclorofenol com Furacin^â demonstrou efetividade por contato direto em 1 minuto sobre os microrganismos *S. mutans*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans*, e em 48 horas sobre o *S. faecalis* e a mistura microbiana crescida.

03. A pasta de hidróxido de cálcio, acrescido de Flagyl^â e solução fisiológica mostrou efetividade controladora eliminando *B. subtilis* em 1 minuto, *S. faecalis*, *S. aureus*, *C. albicans* e a mistura destes foram eliminados após 48 horas, enquanto o *S. mutans* e a *P. aeruginosa* após 72 horas de contato direto.
04. A pasta de hidróxido de cálcio associada à solução de lauril sulfato de sódio a 3% demonstrou efetividade antimicrobiana por contato direto em 1 minuto sobre o *S. mutans*, enquanto para os demais microrganismos, somente no segundo período de observação, 48 horas, este efeito foi evidente.
05. A pasta, cujo veículo foi a solução fisiológica, demonstrou efetividade antimicrobiana sobre o *S. mutans* e a *P. aeruginosa* no tempo de 1 minuto, sobre o *S. faecalis*, *S. aureus*, *C. albicans* e a mistura, após o segundo período de observação, 48 horas, e sobre o *B. subtilis* após o terceiro período de observação, 72 horas.
06. O Calen^â com paramonoclorofenol canforado, em 1 minuto, exerceu efeito letal sobre o *S. mutans* e o *S. faecalis*, enquanto para o *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans* e a mistura, este efeito foi observado somente após 48 horas.
07. O hidróxido de cálcio, associado a solução de paramonoclorofenol a 1% demonstrou efetividade antimicrobiana contra o *S. mutans*, *B. subtilis* e *C. albicans* após 1 minuto de contato, enquanto para os indicadores *S. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e a mistura, o efeito antimicrobiano somente se manifestou após 48 horas.
08. Na pasta cujo veículo foi a Clorexidina a 1%, o *S. mutans*, *S. aureus*, *C. albicans* e a mistura foram eliminados em 1 minuto de contato direto, e o *S. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* após 48 horas de exposição.
09. A associação do Otosporin^â ao hidróxido de cálcio mostrou efetividade antimicrobiana por contato direto em 1 minuto sobre o *S. mutans*, *S. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, e em 48 horas sobre a *C. albicans* e a mistura.
10. Nos grupos controles, soro fisiológico e Ágar-ágar, a *P. aeruginosa*, o *B. subtilis*, a *C. albicans* e a mistura, mantiveram-se viáveis em todos períodos experimentais. O *S. faecalis* e o *S. aureus* permaneceram viáveis até 72 horas, enquanto o *S. mutans* até 48 horas. Nenhum dos resultados demonstrados pelos grupos controles interferiram nos resultados alcançados, ou seja, diante dos períodos analisados em que as pastas se mostraram efetivas os microrganismos permaneceram viáveis.

8 Referências Bibliográficas

- ADDY, M.L.; LANGEROUDI, M. Comparison of the immediate effects on the sub-gingival microflora of acrylic strips containing 40% chlorhexidine, metronidazole or tetracycline. J. Clin. Periodontol., v.11, p.379-386, 1984.
- AKPATA, E.S.; BLECHMAN, H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. J. Dent. Res., v.61, n.2, p.435-438, Feb. 1982.
- ALLARD, V; STROMBERG, V.; STROMBERG, T. Endodontic treatment of experimentally induced apical periodontitis in dogs. Endod. Dent. Traumatol., v.3, n.5, p. 240-244, 1987.
- AMABIS, J.M.; MARTHO, G.R.; MIZUGUCHI, Y. Biologia, São Paulo, Moderna, 1976. 286p.
- ANDO, N.; HOSHINO, E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentine. Int. Endod. J., v.23, n. 1 p. 20-27, Jan. 1990.
- ANTHONY, D.R.; GORDON, T.M.; DEL RIO, C.E. The effect of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. Oral Surg., v.54, n.5, 560-665, Nov. 1982.

- ANWAR, H.; DASGUPTA, M.K.; COSTERTON, J.W. Testing the susceptibility of bacteria in biofilms to antibacterial agentes. *Amer. Soc. Microbiol.*, v.34, n.11, p.2043-2046, 1990.
- ANWAR, H.; STRAP, J.L.; COSTERTON, J.W. Establishment of aging biofilms: possible mechanism of bacterial resistance to antimicrobial therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.36, p.1347-1351, July 1992.
- ARANKI, A.; SYED, S.A.; KENNEY, E.B.; FRETER, R. Isolation of anaerobic bacteria from human gingiva and mouse cecum by means of a simplified glove box procedure. *Appl. Microbiol.*, v. 17, p. 568-576, Apr. 1969.
- ASSED, S. Prevalência de microrganismos em canais radiculares de dentes humanos com reação periapical crônica. Efeito do preparo biomecânico e do curativo de demora. Imunofluorescência indireta e cultura. Ribeirão Preto, 1993. 110 p. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-São Paulo.
- BARBOSA, C.A.; GONÇALVES, R.B.; SIQUEIRA Jr, J.F.; UZEDA, M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. *J. Endod.*, v.23, n.5, p. 297-300, May 1997.
- BARBOSA, S.V.; ALMEIDA, D. HCT 20 - Uma solução irrigadora para canais radiculares humanos. Análise in vitro. *Rev. Bras. Odontol.*, v.44, n.5, p-21-28, set./out. 1987.
- BARBOSA, S.V.; SPANGBERG, L.S.W.; ALMEIDA, D. Low surface tension calcium hydroxide solution is an effective antiseptic. *Int. Endod. J.*, v.27, n.1, p.6-10, Jan. 1994.
- BARNETT F., AXELROD P., TRONSTAD L., GRAZIANI A., SLOTS J., TALBOTT G. Ciprofloxacin treatment of periapical *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.4, n.3, p.132-137, June 1988.
- BARTHEL C.R.; LEVIN, L.C.; REISNER, H.M.; TROPE, M. TNF-alfa release in monocytes after exposure to calcium hydroxide treated *E.coli* lipopolysaccharide. *Int. Endod. J.*, v.29, p.195-210, 1996.
- BAUMGARTNER, J.C. Serum IgG reative with oral anaerobic microorganins associated with infections of endodontic origin. *Oral Microbiol. Imunol.*, v.7, n.2, p.106-110, July 1992.
- BAZIN, M.J.; PROSSER, J.I. Physiological models in microbiology. Flórida, CRC press, 1988.

- BERGENHOLTZ, G. Effects of bacterial products on inflammatory reactions in the dental pulp. Scand. J. Dent. Res., v. 85, p. 122-129, 1977.
- BERK, H. The effect of calcium hydroxide - methylcellulose paste on the dental pulp. J. Dent. Child., v.17, p.65-68, 1950.
- BEVILACQUA, S. Elementos da Farmacologia e Terapêutica. Editora Científica, Rio de Janeiro, 1974. p.165.
- BINNIE, W.H.; ROWE, A.H.R. A histological study of the periapical tissues of incompletely formed pulpless teeth filled with calcium hydroxide. J. Dent. Res., v.52, p.1110-1116, Sept. 1973.
- BIRAL, R.R.; PUPO, J.; VALDRIGUI, L. Atividade antimicrobiana do paramonoclorefenol nas concentrações de 1 e 2%. Rev. Ass. Paul. Cir. Dent., v.36, n.5, p. 476-485, 1982.
- BIRAL, R.R.; PUPO, J.; VALDRIGUI, L. Estudo comparativo do potencial antimicrobiano do paramonoclorefenol associado a cânfora, acetato de metacresila e cânfora e ao furacin, Odont. Mod., v. 9, n. 6, p. 13-20, 1982.
- BIRAL, R.R.; PUPO, J.; VALDRIGUI, L. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana do paramonoclorefenol canforado, do iodo iodeto de potássio a 2% e do formecresol. Rev. Paul. Endod., v.3, n. 3, p. 51-56, 1982.
- BRAMANTE, C.M.; BENATTI NETO, C.; LIA, R.C.C.; ESBERAND, R.M. Tratamento das perfurações radiculares com pastas de hidróxido de cálcio e iodoformio., Emprego de diferentes veículos-Estudo histológico em dentes de cães. Rev. Bras. Odontol., v.43, n.4, p. 22-30, jul./ago. 1986.
- BROWN, L. R.; RUDOLPH, Jr., C.E. Isolation and identification of microorganisms from unexposed canals of pulpinvolved teeth. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., v.10, n.10, p.1094-1099, Oct. 1957.
- BROOK, I.; FRAZIER, E.H.; GHER, M.E. Aerobic and anaerobic microbiology of periapical abscess. Oral Microbiol. Immunol., v. 6, p.123-125, 1991.
- BURNETT, G.W.; SCHUSTER, G.S. Microbiologia Oral e Enfermidade infecciosas. Panamericana., Buenos Aires, 1982, p. 31-70.

- BYSTROM, A.; CLAESSON, R.; SUNDQVIST, G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, comphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod. Dent. Traumatol.*, v. 1, n.5, p. 170-175, Oct. 1985.
- BYSTRON, A.; HAPPONEN, R.P.; SJÖGREN, U.; SUNDQVIST, G. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled assepsis. *Endod. Dent. Traumatol.*, v. 3, n.2, p.58-63, April 1987.
- BYSTRON, 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.
- BYSTRON, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the effects of 0,5% sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v. 55, n.3, p. 307-312, March 1983.
- CÉSAR, C.A.S. Estudo comparativo da resposta do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de tubos de dentina, obturados parcialmente e complementados com diferentes misturas de hidróxido de cálcio. Araraquara, 1980. (Dissertação de Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto- USP- São Paulo.
- COSTA, W.F.; ANTONIAZZI, J.H.; CAMPOS, N.M.C.; PÉCORA, J.D. ROBAZZA, C.R.C. Avaliação comparativa sob microscopia óptica, da capacidade de limpeza da irrigação manual convensional versus ultra-sônica de canais radiculares. *Rev. Paul. Odontol.*, v.8, n.5, p.50-60, set./out., 1986.
- CVEK, M. Treatmrent of non-vital permanent incisos with calcium hydroxide. I. Follow-up of periapical repair and apical clouse of immature. *Odond. Revy.*, v.23, p. 27-44, 1972.
- CVEK, M.; HOLLENDER, L.; NORD, C.E. Trearment of nonvital permanent incisors with calcium hidroside VI. A clinical, microbiological and radiological evaluation of tratment in one sitting of teeth with mature or imature root. *Odond. Revy.*, v .27, p. 93-108, 1976.
- CWIKLA, J.R. The vaporization and capillarity effect of endodontic medicaments. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.34, n.1, p.117-121, 1972.
- DAHLÉN, G.; BERGENHOLTZ, G. Endotoxic activity in teeth with necrotic pulps. *J. Dent. Res.*, v. 59, n. 6, p. 1033-1040, June 1980.

- DAHLÉN, G.; HOFSTAD, T. Endotoxic activities of lipopolysaccharides of microroganisms isolated from an infected root canal in *Macaca cynomolgus*. *Scand. Dent. Res.*, v. 85, n. 4, p. 272-278, May 1977.
- DIFIORE, P.M.; PETERS, D.D.; SETTERSTROM, J.A. The antibacterial effects of calcium hydroxide apexification pastes on *Streptococcus sanguis*. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v. 55, n.1, p. 91-94, Jan. 1983.
- EDA, S. Histochemical analysis on the mechanism of dentin formation in dog's pulp. *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, v.2, n.2, p.59-88, Sept. 1961.
- ESTRELA, C.; BAMMANN, L.L.; SYDNEY, G.B.; MOUAR, J. Efeito antibacteriano de pastas de hidróxido de cálcio sobre bactérias aeróbias facultativas. *Rev. Fac. Odont. Bauru*, v.3, n.1, p.21-27, 1995.
- ESTRELA, C.; BAMMANN, L.L.; LOPES, H.P.; MOURA, J. Análise comparativa da ação antibacteriana de três cimentos obturadores contendo hidróxido de cálcio. *Rev. Ass. Bras. Odontol. Nac.*, v.3, n.3, p. 185-187, 1995.
- ESTRELA, C. CÉSAR, O.V.S., SYDNEY, G.B.; LOPES, H.P.; PESCE, H.F. Incidência de dor frente ao tratamento da inflamação periapical aguda e crônica. *Rev. Bras. Odontol.*, v.53, n.4, p. 15-19, ago./set. 1996.
- ESTRELA, C.; LOPES, H.P.; FELIPPE Jr., O. Chemical study of calcium carbonate present in various calcium hydroxide samples. *Braz. Endod. J.*, v.2, n.2, 1997. (in press).
- ESTRELA, C.; PESCE, H.F. Chemical analysis of the liberation of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide pastes in the presence of connective tissue of the dog. Part I. *Braz. Dent. J.*, v.7, n.1, p.41-46, 1996.
- ESTRELA, C.; PESCE, H.F. Chemical analysis of the formation of calcium carbonate and its influence on calcium hydroxide pastes in the presence of connective tissue of the dog. Part I. *Braz. Dent. J.*, v.8, n.1, p. 45-53, 1997.
- 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., n. 1, p.15-17, 1998.
- ESTRELA, C.; PIMENTA, F.C.; ITO, I.Y.; BAMMANN, L.L. Antimicrobial evaluation of calcium hydroxide in infected dentinal tubules. *J. Endod.*, v.25, n.6, p. 416-418, 1999.

- ESTRELA, C.; SYDNEY, G.B.; BAMMANN, L.L.; FELIPPE Jr., O. Estudo do efeito biológico do pH na atividade enzimática de bactérias anaeróbias. *Rev. Fac. Odontol. Bauru*, v. 2, n.4, p. 29-36, 1994.
- ESTRELA, C.; SYDNEY, G.B.; PESCE, H.F.; FELIPPE Jr., O. Dentinal diffusion of hydroxyl ions of vários calcium hydroxide pastes. *Braz. Dent. J.*, v. 6, n.1, p. 5-9, 1995.
- ESTRELA, C.; SYDNEY, G.B.; BAMMANN, L.L.; FELIPPE Jr., O. Mechanism of the 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.; SYDNEY, G.B. EDTA effect at root dentin pH then exchange of calcium hydroxide paste. *Braz. Endod. J.*, v.2, n.1, 12-17, 1997.
- FABER, P.A.; SELTZER, S. Endodontic microbiology - I - Etiology, *J. Endod.*, v. 14, n. 7, p.363-71, July 1988.
- FABRICIUS, L.; DAHLÉN, G.; ÖHMAN, A.E.; MÖLLER, A.J.R. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Scand. J. Dent. Res.*, v. 90, p. 134-144, Apr. 1982.
- FAGER, F.K.; MESSER, H.H. Systemic distribution of camphorated monoclorophenol from cotton pellets sealed in pulp chambers. *J. Endod.*, v.12, n.6, p.225-229, June 1986.
- FAVA, L.R.G. Efeito antibacteriano das pastas de hidróxido de cálcio. Revisão. *Rev. Paul. de Odontol.*, v.15, n.1, p.10-16, jan./fev. 1993.
- FEIRER, W.A.; LEONARD, V. Hexylresorcinol in oral antisepsis with special reference to solution 37. *Dent. Cosmos*, v.69, n.9, p.882-892, 1927.
- FERRARESI, A.; ITO, I.Y. Avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) de pasta de hidróxido de cálcio com PMCC, de PMCC e PMC. Barretos, 1990. (Relatório de Bolsa de Iniciação Científica apresentada à FAPESP).
- FERREIRA, A.C.S.; ALMEIDA, D.; FONSECA, G. Avaliação do poder bacteriostático e bactericida do hidróxido de cálcio utilizado como curativo de demora nos canais radiculares. *Rev. Bras. Odontol.*, v.35, n.2, p.15-21, mar./abr. 1978.

- FOSTER, K.H.; KULILD, J.C.; WELLER, R.N. Effect of smear layer removal on the diffusion of calcium hydroxide through radicular dentin. *J. Endod.*, v.19, n.3, March 1993.
- FRANK, A.L. Therapy for the divergent pulpess tooth by continued apical formation. *J. Amer. Dent. Assoc.*, v.72, n.1, p.87-93, Jan. 1966.
- FULGHUM, R.S.; WIGGIS, C.B.; MULLANEY, T.P. Pilot study of detecting obligate anaerobic bacteria in necrotic dental pulps. *J. Dent. Res.*, v. 52, n.61, p. 637, 1973.
- FUSS, R.; RAFAELOFF, R.; TAGGER, M.; SZAJKIS, S. Intracanal pH changes of calcium hydroxide pastes exposed to carbon dioxide in vitro. *J. Endod.*, v.22, n.4, p. 362-364, 1996.
- FUSS, R.; SZAJKIS, S.; TAGGER, M. Tubular permeability to calcium hydroxide and to bleaching agents. *J. Endod.*, v.15, n.8, p.362-364, Aug. 1989.
- GENCOGLU, N.; KULEKÇI, G. Antibacterial efficacy of root canal medicaments. *J. Nihon Univ. Sch. Dent.*, v.34, p.233-236, 1992.
- GEORGEPOULOU, M.; KONTAKIOTIS, E.; NAKOU, M. In vitro evaluation of the effectiveness of calcium hydroxide and paramonoclorophenol on anaerobic bacteria form the root canal. *Endod. Dent. Traumatol.*, v. 9, n.6, p. 249-253, Dec. 1993.
- GOMES, I.C.; CHEVITARESSE, O.; ALMEIDA, N.S.; SALLES, M.R.; GOMES, G.C. Diffusion of calcium through dentin. *J. Endod.*, v.22, n.9, p.590-595, 1996.
- GORDON, D.F.; STURMAN, M.; LOESCHE, W.J. Improved isolation of anaerobic bacteria from gingival crevice area of man. *Appl. Microbiol.*, v. 21, n.6, p. 1046-1050, Aug. 1971.
- GORDON, T.M.; ALEXANDRE, J. B. The effects of calcium hydroxide on bovine pulp tissue: variations on pH and calcium concentrations. *J. Endod.*, v. 11, n.5, p. 156-60, May 1985.
- GRAMSTROM, G. Relationship of inorganic pyphosphatase and pnitrophenyl-phosphatase activities of alkaline phosphatase in the microsomal fraction of isolated odontoblasts. *Scand. J. Dent. Res.*, v. 90, n. 4, p. 271-77, 1982.
- GRANSTROM, G.; LINDE, A. A biochemical study of alkaline phosphatase in isolated rat incisor odontoblast. *Arch. Oral Biol.*, v. 17, p. 1213-1224, 1972.
- GRANSTROM, G.; LINDE, A.; NYGREN, H. Ultrastructural localization of alkaline phosphatase in rat incisor odontoblasts. *J. Histochem. Cytochem.*, v. 26, p. 359-368, 1978.

- GREENSTEIN, G.; BERMAN, C.; JAFFIN, R. Chlorhexedine. An adjunct to periodontal therapy. *J. Periodontol.*, v.57, p.370-376, 1986.
- GREENWOOD, N.N.; EARNSHAW, A. *Chemistry of the elements*. New York. Pergamon Press. 1984, p. 117-54.
- GRIFFEE, M.B.; PATTERSONS, S.; MILLER, C.H.; KAFRAWY, A. H.; NEWTON, C.W. The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* associated with pulpal necrosis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.50, n.5, p.457-461, Nov. 1980.
- GUIMARÃES, S.A.C.; ALLE, N. Estudo histoquímico da reação tecidual ao hidróxido de cálcio. *Estomat. & Cult.*, v. 8, n.1, p. 79-82, 1974.
- HAAPASALO, M. The genus *Bacteroides* in human dental root canal infections. Finland, 1986. 87p. (Dissertation - Master) - University of Helsinki- Finland.
- HAAPASALO, M. The *Bacteroides* spp. in dental root canal infection. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.5, n.1, p.1-10, Feb. 1989.
- HAAPASALO, M.; ORSTAVIK, D. "In vitro" infection and disinfection of dentinal tubules. *J. Dent. Res.*, v. 66, n. 8, p. 1375-1379, Aug. 1987.
- HARRISON, J.W.; HAND, R.E. The effect dilution and organic matter on the antibacterial property of 5.25% sodium hypochlorite. *J. Endod.*, v.7, n.3, p.128-132, Mar. 1981.
- HARRISON, J.W.; MADONIA, J.V. The toxicity of paraclorophenol. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.32, n.2, p.90-99, 1971.
- HASSELGREN, G.; OLSSON, B.; CVEK, M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. *J. Endod.*, v. 14, n.3, p.125-127, Mar. 1988.
- HELING, I.; STEINBERG, D.; KENIG, S.; GAVRILOVICH, I.; SELA, M.N.; FRIEDMAN, M. Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and calcium hydroxide in preventing secondary infection of dentinal tubules. *Int. Endod. J.*, v.25, p.20-24, 1992.
- HEITHERSAY, G.S. Periapical repair following conservative endodontic therapy. *Aust. Dent. J.*, v.15, p.511-518, Dec. 1970.

- HEITERSAY, G.S. Calcium hydroxide in the treatment of pulpes teeth with associated pathology. J. Brit. Endod. Soc., v. 8, n.2, p. 74-93, 1975.
- HERMAN, B.W. Calciumhidroxid als mittel zum behandeln und fullen von wurzelkanalen. Wurzburg Med. Diss., 1920. Apud CASTAGNOLA, L. La conservatioón de la vitalidad de la pulpa en la operatória dental. Bueno Aires, Mundi, 1956, p.48.
- HOLLAND, R. Histochemical response of amputated pulps to calcium hydroxide. Rev. Bras. Pesq. Med. E Biol., v. 4, n.2, p. 83-95, 1971.
- HOLLAND, R. Emprego tópico de medicamentos no interior dos canais radiculares. Odonto Master, v.1, n.2, p.23-35, 1994.
- HOLLAND, R.; GONZALES, A.C.; NERY, M.J. Efeito de curativos de demora hidrossolúveis e não hidrossolúveis no processo de reparo de dentes de cães com lesão periapical. 1993. (no prelo)
- HOLLAND, R.; PINHEIRO, C.E.; MELLO, W.; NERY, M.J.; SOUZA, V. Histochemical analysis of the dog's dental pulp capping with calcium, barium, and strontium hydroxide. J. Endod., v.8, n. 10, p. 444-7, Oct. 1982.
- HOLLAND, R.; SOARES, I.J.; SOARES, I.M. Influence of irrigation and intracanal dressing on the healing process of dog's teeth with apical periodontitis. Endod. Dent. Traumatol., v.8, n.5, p-223-229, Oct. 1992.
- HOLLAND, R. ; SOUZA, V. Resposta da conjuntiva do olho de coelho a algumas substâncias empregadas na desinfecção dos canais radiculares. 1978. APUD: SOUZA, V.; HOLLAND, R.; NERY, M.J.; MELLO, W. Emprego de medicamentos no interior dos canais radiculares. Ação tópica e a distância de algumas drogas. Ars Curandi, v.5, n.6, p.4-15, sept. 1978.
- HOLLAND, R.; SOUZA, V.; MELLO, W.; NERY, M.J.; BERNABÉ, P.F.E.; OTOBONI FILHO, J.A. Healing process of dog's dental pulp after pulptomy and protection with calcium hydroxide. Rev. Odont. Unesp., v. 8, n.9, p. 67-73, 1979/1980.
- HOLLAND, R.; SOUZA,V.; MILANEZI, L.A. Behaviour of pulp stump and periapical tissues to some drugs used as root canal dressings. A morphological study. Rev. Bras. Pesq. Med. Biol., v.2, n.1, p.13-23, 1969.

- HOLLAND, R.; SOUZA, V.; NERY, M.J. MELO, W.; BERNABÉ, P.F.E. Root canal treatment with calcium hydroxide. Effect of an oil water soluble vehicle. Rev. Odontol. Unesp., v. 12, n. 1/2, p. 1-6, 1983.
- HOLLAND, R.; SOUZA, V.; NERY, M.J.; MELLO, W.; BERNABÉ, P.F.E. Comportamento do coto pulpar e dos tecidos periapicais de dentes de cães a algumas substâncias empregadas na desinfecção dos canais radiculares. APUD: SOUZA, V.; HOLLAND, R.; NERY, M.J.; MELLO, W. Emprego de medicamentos no interior dos canais radiculares. Ação tópica e a distância de algumas drogas. Ars Curandi, v.5, n.6, p.4-15, sept. 1978.
- HOLLAND, R.; SOUZA, V.; NERY, M.J.; MELLO, W.; BERNABÉ, P.F.E.; OTTOBONI FILHO, J.A. Effect of the dressing in root canal treatment with calcium hydroxide. Rev. Fac. Odont. Araçatuba, v.7, n.1, p. 39-45, 1978.
- HOLLAND, R.; SOUZA, V.; MELLO, W.; NERY, M.J.; BERNABÉ, P.F.E.; OTTOBONI FILHO, J.A. A histological study of the effect of calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth of dogs. J. Brit. Endod. Soc., v.12, n.1, p-15-23, 1979.
- HOLLAND, R.; SOUZA, V.; MELLO, W.; NERY, M.J.; BERNABÉ, P.F.E.; OTTOBONI FILHO, J.A. Manual de Endodontia - Faculdade de Odontologia de Araçatuba -UNESP, 1978/1979.
- HOLLAND, R.; VALLE, G.F.; TAINTOR, J.F.; INGLE, J.I. Influence of bony resorption on Endodontic treatment. J. Endod., v.55, n.2, p.191-203, 1983.
- HOLT, S.C.; PROGULSKE, A. General microbiology, metabolism, and genetics. IN: NISENGARD, R.J.; NEWMAN, M.G. Oral microbiology and Immunology. 2 ed., Philadelphia, Saunders, 1994. p.47-114.
- HORIBA, N.; MAEKAWA, Y.; ITO, M. MATSUMOTO, T.; NAKAMURA, H. Correlations between endotoxin and clinical symptoms or radiolucent areas in infected root canals. Oral Surg Oral Med. Oral Pathol., v.71, n.4, p.492-495, 1991.
- JUNQUEIRA, L.C. CARNEIRO, L. Biologia celular e molecular., 5ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991. 260 p.
- KAKEHASHI, S.; STANLEY, H.R.; FITZGERALD, R.J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., v. 20, p. 340-349, 1965.

- KODUKULA, P.S.; PRAKASAM, T.B.S.; ANTHONISEN, A.C. Role of pH in biological wastewater treatment process. Apud BAZIN, M.J.; PROSSER, J.I. Physiological models in microbiology. Florida, CRC Press, 1988, p. 113-134.
- KONTAKIOTIS, M.; NAKOU, M.; GEORGEPOULOU, M. In vitro study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. *Int. Endod. J.*, v. 28, p. 285-289, 1995.
- KURODA, T. Zur pharmakologie des o-m, p-chorphenol Kamphers. *Vjschr. Zhk.*, p.567, 1926.
- LAWS, A J. Calcium hydroxide as a possible root filling material. *The New Zeal. Dent. J.*, v. 58, p. 199-215, Oct. 1962.
- LEHNINGER, A.L. Princípios de bioquímica. 2 ed., São Paulo, Brasil, Sarvier, 1986.
- LEONARDO, M.R.; LEAL, J.M. Endodontia: Tratamento de canais radiculares. 2 ed., São Paulo. Panamericana, 1991.
- LEONARDO, M.R.; SILVA, R.S.; SILVA, L.A.B.; ASSED, S. Determinação de íons Ca^{+2} , pH e solubilidade de pastas de hidróxido de cálcio contendo PMC e PMCC. *Rev. Bras. Odontol.*, v. 50, n.1, p. 5-10, jan./fev. 1993.
- LINDHE, G. Antissépticos e antibióticos em Periodontia. In: LINDHE, J. Tratado de Periodontologia Clínica. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1995. p.270.
- LOPES, H.P.; COSTA Fº, A.S. O emprego do hidróxido de cálcio associado ao azeite de oliva. *Rev. Gaúcha de Odontol.*, v.34, n.4, p.306-313, 1986.
- LOPES, H.P.; ESTRELA, C. ELIAS, C.N. Comparative study of calcified bridge after pulpotomy and the use of calcium hydroxide associated with diferent vehicles. *Braz. Endod. J.*, v.1, n.1, p.39-43, 1996.
- LOPES, H.P.; ESTRELA, C.; SIQUEIRA, J.; FAVA, L.R. Considerações químicas, microbiológicas e biológicas do hidróxido de cálcio. *Odonto Master*, v.1, n.6, p.1-17, 1996.
- MACDONALD, J.B.; HARE, G.C.; WOOD, A.W.S. The bacteriologic status of the pulp chambers in intact teeth found to be novital following trauma. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.10, n.3, p. 318-322, Mar. 1957.

- MAISTO, O.A.; CAPURRO, M.A. Obturación de conductos radiculares con hidróxido de cálcio-iodofórmio. Rev. Ass. Odont. ARGENTINA, v.52, n.5, p.167-173, 1964.
- MARTINS, J.B.; BERNARDINELI, N.; BERBERT, A.; MARQUES, A.L.V.; LOPES, E.S. Efeitos da biomecânica e decurativos de demora com hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol a 1% ou associação de ambos na redução da flora microbioana de canais radiculares infectados. Ars curandi Odontol., v.6, n. 7, p. 44-57, 1979.
- MATSUMIYAS, S.; KITAMURA, M. Histopathological and histobacteriological studies of the relation between the condition of sterilization of the interior of the root canal and the healing process of periapical tissues in experimentally infected root canal treatment. Bull. Tokyo Dent. Coll., v. 1, p. 1-19, 1950.
- MEJÁRE, B. The incidence and significance of Streptococcus sanguis, Streptococcus mutans and Streptococcus salivarius in root canal cultures from human teeth. Odont. Revy, v.25, n.4, p.359-377, 1974.
- MEJÁRE, B. Streptococcus faecalis and Streptococcus faecacium in infected dental root canals at filling and their susceptibility to azido cillin and some comparable antibiotics. Odont. Revy, v.26, n.3, p.193-203, 1975.
- MESSER, H.H. Effect phosphate deficiency on pulp alkaline phosphatase and Ca^{2+} , Mg^{2+} - ATPase activity in rast. J. Dent. Res., v. 61, n.9, p. 1110-12, 1982.
- MESSER, H.H.; FEIGAL, R.J. A comparison of the antibacterial and citotoxic effects of parachlorophenol. J. Dent. Res., v.64, p.818-821, 1985.
- MILLER, W.D. The microoorganisms of the human mounth. S.S.White Dental Mfgo. CO., Philadelphia. 1890.
- MILLER, W.D. An introduction to the study of the bacteriopathology of the dental pulp. Dental Cosmos. v. 36, p. 505-528, 1894.
- MIRANDA, V.C. Identificação de microorganismos resistentes ao tratamento endodôntico, com especial refência aos Estreptococos. Rev. Fac. Farm. Odontol. Araraquara, v. 3, n.1, p. 73-95, 1969.
- MITCHELL, O.F.; SHANKAWALKER, G.B. Osteogenic potencial of calcium hydroxide and other materials in soft tissue and bone wounds. J. Dent. Res., v. 37. p.1157-63, 1958.

- MÖLLER, A.J.R. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. *Odontol. Tidskr.* v.74, p.1-38, 1966.
- MÖLLER, A.J.R.; FABRICUS, L.; DAHLÉN, G.; ÖHMAN, A.E.; HEYDEN, G. Influence on periapical tissues of indigeneous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand. J. Dental Res.*, v. 89, n.6, p. 475-484, Dec.1981.
- MOURA, R.A.A. *Técnicas de Laboratório*. 2 ed. São Paulo, Atheneu, 1982. p.230-256.
- NAGEM FILHO, H.; VIEIRA PINTO, L. Compatibilidade biológica do tergentol e do texapon k 12. *Rev. Ass. Paul. Cir. Dent.*, v.32, n.1, p.27-30, 1978.
- NAIR, P.N.R.; SJÖGREN, U.; KAHNERG, K.E.; SUNDQVIST, G. Intraradicular bacteria and fungi in root - filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: A long-term light and electron microscopic follow-up study, *J. Endod.*, v. 16, n. 12, p. 580-588, Dec. 1990.
- NAIR, P.N.R. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontology* 2000, v. 13, n.1, p. 29-39, Feb. 1997.
- NEIDHART, F.C. *Physiology of the bacterial cell - a molecular approach.*, Masschettus, Ed. Sinauer, 1990, p. 226-246.
- NERWICH, A.; FIGDOR, D.; MESSER, H.H. pH changes in root dentine over a 4 week period following root canal dressing with calcium hydroxide *J. Endod.*, v. 19, n.6, p. 302-306, June 1993.
- NISENGARD, R.J.; NEWMAN, M.G. *Oral Microbiology and Immunology*. 2^a ed., Philadelphia, Saunders, 1994, 477 p.
- NOLTE, W.A. *Oral microbiology*. 4th ed., London, Mosby. 1982, p. 55-125.
- OHARA, P.K.; TORABINEJAD, M.; KETTERING, J.D. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.9, p.95-100, 1993.
- OLETO, E. M.O.; MELO, G. R. Do emprego do hipoclorito de sódio, paramonoclorefenol e hidróxido de cálcio em necrose pulpar - Estudo clínico em dentes humanos. *Arq. Cent. Est. Curso. Odontol.* v. 21/22, n. 1/2, p. 113-26, 1984/85.

- ORSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod. Dent. Traumatol.*, v. 6, n.3, p.142-149, June 1990.
- ORSTAVIK, 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, n.1, p.1-7, Jan. 1991.
- OSBORN, J.W.; TEN CATE, A.R. *Histologia Dental Avançada*, 4ª ed. São Paulo, Quintessence Books, 1988. p. 81-95.
- PAIVA, J.G.; ANTONIAZZI, J.H. *Endodontia - Bases para a prática clínica*. Artes Médicas, 2 ed., São Paulo. 1988.
- PASHLEY, D.H.; KALATHOOR, S.; BURNHAM, D. The effects of calcium hydroxide on dentin permeability. *J. Dent. Res.*, v.65, n.3, p.417-420, Mar. 1986.
- PÉCORA, J.D.; SOUZA NETO, M.D.; SAQUY, P.C.; SILVA, R.G.; CRUZ FILHO, A.M. Effect of Dakin's and EDTA solutions on dentin permeability of root canals. *Braz. Dent. J.*, v.4, n.2, p.79-84, 1993.
- PISANTI, S.; SCIAKY, I. Origin of calcium the repair wall after pulp exposure in the dog. *J. Dent. Res.*, v. 43, p.641-44, 1964.
- PROVENCIO, A.S.F. Estudo de pastas à base de hidróxido de cálcio, utilizadas para a obturação de canais radiculares. Avaliação histopatológica. Araraquara, 1982. 142p. (Dissertação - Mestrado), Faculdade de Odontologia-UNESP.
- PUTNAM, R.W. Intracellular pH regulation. IN: *Cell physiology*. San Diego, Academic Press, 1995. p.212-229.
- PUCCI, F.M. Conductos radiculares. Vol. II, Casa A. Barreiro y Ramos S.A., Montevideo, 1944-1945. p. 344-377.
- QUACKENBUSH, L. "In vitro" testing of three types of endodontic medicaments against anaerobic bacteria. *J. Endod.*, v. 12, n.3, p. 132-136, Mar. 1986.
- RANTA, K.; HAAPASALO, M.; RENTA, H. Monoinfection of root canal with *Pseudomonas aeruginosa*. *Endod. Dent. Traumatol.*, v. 4, n.6, p. 269-272, June 1988.

- RASMUSSEN, P. & MJOR, I.A. Calcium hydroxide as ectopic bone inductor in rats. *Scand. J. Dent. Res.*, v.79, n.1, p.24-30, 1971.
- REHMAN, K.; SAUNDERS, W.P.; FOYE, A.H.; SHARKEY, S.W. Calcium ion diffusion from calcium hydroxide-containing materials in endodontically treated teeth. An in vitro study. *Int. Endod. J.*, v.29, p.271-279, 1996.
- ROLLA, G.; LOE, H.; SCHIOTT, C.R. Retention of chlorhexedine in the human oral cavity. *Arch. Oral Biol.*, v.16, p.1109-1116, 1971.
- ROLLA, G.; MELSEN, B. On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexedine. *J. Dent. Res.*, v.54, p.57-62, 1975.
- ROTHIER, A.; ANDRADE, A.M.; PACCA, C.A.D. Estudo da ação antimicrobiana através de vapores, de sete substâncias medicamentosas usadas no tratamento endodôntico. *Rev. Ass. Paul. Cir. Dent.*, v.37, n.2, p.118-123, 1983.
- RUBIN, E.; FARBER, J.L. *Patologia*. 1 ed., Rio de Janeiro, Interlivros, 1990. p.2-30.
- SAFAVI, K.E.; DOWDEN, W.E.; INTROCASO, J.H.; LANGKAND, K. A comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine-potassium iodine. *J. Endod.*, v.11, n.10, p.454-456, Oct. 1985.
- SAFAVI, K.E.; NICHOLS, F.C. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *J. Endod.*, v.19, n.2, p.76-78, Feb. 1993.
- SAFAVI, K.E.; NICHOLS, F.C. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J. Endod.*, v.20, n.3, p.127-129, Mar. 1994.
- SAFAVI, K.E.; SPANGBERG, L.S.W.; LANGELAND, K. Root canal dentinal tubule disinfection. *J. Endod.*, v. 16, n.5, p. 207-210, May 1990.
- SCHEIN, B.; SCHILDER, H. Endotoxin content in endodontically involved teeth. *J. Endod.*, v.1, n.1, p.19-21, Jan. 1975.
- SCIACKY, I.; PISANTI, S. Localization of calcium placed over amputated pulps in dog's teeth. *J. Dent. Res.*, v.39, p.1128-1132, 1960.

- SELTZER, S.; BENDER, I.B. A polpa dental. 2 ed. Rio de Janeiro, Labor, 1979, 499 p.
- SELTZER, S.; FARBER, P.A. Microbiologic factors in endodontology. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., v.78, n.5, Nov. 1994.
- SEUX, D.; COUBLE, M.L.; HARTMAN, D.J.; GAUTHIER, J.P.; MAGLOIRE, H. Odontoblast like cytodifferentiation of human pulp cells in vitro in the presence of a calcium hydroxide contaminating cement. Archs. Oral Biol., v. 36, n.2, p. 117-128, 1991.
- SHOVELTON, D.S. The presence and distribution of microorganisms within Non-vital Teeth. British Dental J., v. 117, n.3, p. 101-107, 1964.
- SILVA, L.A.B.; LEONARDO, M.R.; UTRILLA, L.S. Rizogênese incompleta. Efeito de diferentes pastas à base de hidróxido de cálcio na complementação radicular e reparação periapical de dentes de cães. Estudo histológico. Rev. Odont. USP, v.5, n.1, p.29-36, 1991.
- SIQUEIRA Jr., J.F.; LOPES, H.P.; UZEDA, M. Atividade antibacteriana de medicamentos endodônticos sobre bactérias anaeróbias estritas. Rev. Ass. Paul.Cir. Dent., v.50, n.4, jul./ago. 1996.
- SIQUEIRA Jr., J.F.; MAGALHÃES, F.A.C.; UZEDA, M. Avaliação da atividade antibacteriana da medicação intracanal. Rev. Gaúcha de Odontol., v.44, n.5, set./out. 1996.
- SIQUEIRA Jr., J.F.; UZEDA, M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. J. Endod., v.22, n.12, Dec. 1996.
- SIQUEIRA Jr., J.F.; LOPES, H.P.; MAGALHÃES, F.A.C.; UZEDA, M. Atividade antibacteriana da pasta de hidróxido de cálcio/PMCC/glicerina contendo diferentes proporções de iodofórmio sobre bactérias anaeróbias estritas e facultativas. Rev. Paulista de Odontol., v.19, n.2, mar./abr. 1997.
- SIQUEIRA Jr., 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, Mar. 1996.
- SJÖGREN, V.; FIGDOR, D.; SPANGBERG, L.; SUNDQVIST, G. The antimicrobial effects of calcium hydroxide as a short-term intra-canal dressing. Int. Endod. J., v. 24, n.3, p.119-125, May 1991.

- SLOTS, J.; TAUBMAN, M.A. Contemporary Oral Microbiology and Immunology. Mosby, 1992, 649 p.
- SMITH. J. W.; LEEB, I. J.; TORNEY, D. L. A comparison of calcium hydroxide and barium hydroxide as agent for inducing apical closure, J. Endod., v.10, n. 2, p. 64-70, Feb. 1984.
- SOCRANSKY S.S.; MACDONALD, J.B.; SAWYER. S. The cultivation of Treponema microdentium as surfaces colonies. Arch. Oral Biol., v. 1, p.171-172, Oct. 1959.
- SOEKANTO, A.; KASUGAI, S.; MATAKI, S.; OHAYA, K.; OGURA, H. Toxicity of camphorated phenol and camphorated parachlorophenol in dental pulp cell culture. J. Endod., v.22, n.6, p.284-286, June 1996.
- SOUZA, V.; BERNABÉ, P.F.E.; HOLLAND, R.; NERY, M.J.; MELLO, W.; OTOBONI. FILHO, J.A. Tratamento não- cirurgico de dentes lesões periapicais. Rev. Bras. Odontol., v. 46, n.2, p.39-46, mar./abr. 1989.
- SOUZA, V.; HOLLAND, R.; HOLLAND Jr., C.; NERY, M.J. Estudo morfológico do comportamento da polpa dentária após pulpotomia e proteção com óxido de magnésio ou hidróxido de cálcio. O Incisivo, v.1, n.1, p.18-21, 1972.
- SOUZA, V.; HOLLAND, R.; NERY, M.J.; MELLO, W. Emprego de medicamentos no interior dos canais radiculares. Ação tópica e à distância de algumas drogas. Ars Curandi, v. 5, n. 6, p. 4-15, set. 1978.
- SOUZA, M.M.; SOUZA, M.C.M.G.; SAQUY, P.C.; PÉCORA, J.D. Ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio em diferentes concentrações e tempos de contato. Odonto, v.2, n.4, p.302-306, nov./dez. 1992.
- SPANGBERG, L.; ENGSTROM, B.; LANGELAND, K. Biologic effects of dental materials toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., v.36, p.856-871, 1973.
- SPANGBERG, L.; RUTBERG, M.; RYDINGE, E. Biologic effects of endodontic antimicrobial agents. J. Endod., v.5, n.5, June 1979.
- STAMOS, D.G.; HAASCH, G.C.; GERSTEIN, H. The pH of local anesthetic/calcium hydroxide solutions. J. Endod., v.11, n.6, p. 264, June 1985.

- STEVENS, R.H.; GROSSMAN, L.I. Evaluation of the antimicrobial potencial of clacium hydroxidce as an intracanal medicament. J. Endod., v. 9, n.9, p. 327-374, Sept. 1983.
- STUART, K.G.; MILLER, C.H. BROWN, J.R.; NEWTON, C.W. The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., v.72, n.1, p. 101-104, July 1991.
- SUNDQVIST, G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Umea, 1976. 94p. Dissertation (Master) - University of Umeo, Sweden.
- SUNDQVIST, G. Associations between microbial species in dental root canal infections. Oral Microbiol. Immunol., v. 7, n.5, p. 257-262, Oct. 1992.
- SUNDQVIST, G.; ECKERBOM, M.I.; LARSSON, A.P., SJÖGREN, U.T. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. Infec. Immun., v. 25, n.21, p. 685-693, Aug. 1979.
- SUNDQVIST, G.; JOHANSSON, E. Neutrophil chemotaxis induced by anaerobic bacteria isolated from necrotic dental pulps. Scand, J. Dent. Res., v. 88, n.2, 113-121, Apr. 1980.
- SUNDQVIST. G. Ecology of the root canals flora. J. Endod., v. 18, n.9, p. 427-30, Sept. 1992.
- SYDNEY,G.B. Identificação da microflora endodôntica após o preparo do canal radicular de dentes portadores de periodontite apical assintomática e o emprego de medicação de hidróxido de cálcio em diferentes tempos. São Paulo, 1996. (Tese de Doutorado) Faculdade de Odontologia da USP. 136p.
- SYDNEY, G.B.; ESTRELA, C. The influence of root canal preparation on anaerobic bacteria in teth with asymptomatic apical periodontitis. Braz. Endod. J., v.1, n.1, p.12-15, 1996.
- TANOMARU FILHO, M. Comportamento dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães portadores de reação periapical crônica em função da técnica de neutralização do conteúdo séptco-tóxico e do cimento obturador empregado no tratamento endodôntico. Avaliação radiográfica e histopatológica. Araraquara, 1996. (Tese de doutorado da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP).
- THOMPSON, S.W.; HUNT, R.D. Selected histochemical and histopathological methods. Flórida, Charles C. Thomas, 1966. p.615-46.

- TRONSTAD L. Clinical Endodontics. New York, Thieme, 1991: 167-83.
- TRONSTAD. L. Recent development in endodontic research. Scand. J. Dent. Res., v. 100, p.52-5, 1992.
- 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, n.1, p.17-21, Jan. 1981.
- TRONSTAD, L.; BARNETT, F.; CERVONE, F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. Endod. Dent. Traumatol., v. 6, n.2, p.73-77, Apr., 1990.
- TRONSTAD, L.; BARNETT, F.; RISO, K.; SLOTS, J. Extra-radicular infections. Endod. Dent. Traumatol., v.3, n.2, p.86-90, Apr. 1987.
- TRONSTAD, L.; KRESHTOOL, D.; BARNETT, F. Microbiological monitoring and results of treatment of extraradicular endodontic infection. Endod. Dent. Traumatol., v.6, n.3, p.129-136, June 1990.
- VANTULOKI, J.C.; BROWN, J.I. An in vitro study of the diffusibility of camphorated parachlorophenol and metacresylacetate in the root canal. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., v.34, n.4, p. 653-660, 1972.
- VILLALPANDO, K.T.; TOLEDO, S. Uso tópico do gel de clorexedine a 1% como agente redutor da placa dental e da inflamação gengival. Rev. Gaucha de Odontol., v.45, n.1, p.17-22, jan./fev., 1997.
- WANG, J.D.; HUME, W.R. Difusion of hydrogen ion and hydroxil ion from various sources through dentine. Int. Endod. J., v. 21, n.1, p.17-26, Jan. 1988.
- WAKABAYASHI, H.; HORIKAWA, M.; FUNATO, A.; ONODERA, A.; MATSUMOTO, K. Bio-microscopical observation of dystrophic calcification induced by calcium hydroxide. Endod. Dent. Traumatol., v.9, n.4, Aug. 1993.
- WINKLER, K.C. Bacteriologic results from 4000 root canal cultures. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., v.12, n.7, p.857-875, July 1959.

- YEUNG, F.J.S.; NEWMAN, H.N.; ADDY, M. Subgingival metronidazole in acrylic resin vs. chlorhexedine irrigation in the control of cronic periodontitis. J. Periodontol., v.54, p.651-657, 1983.
- YOSHIDA, M. Correlation between clinical symptoms and microorhganisms isolated from root canals of teeth peripical pathosis. J. Endod., v.13, n.1, p. 24-28, Jan. 1987.
- ZERLOTTI, E. Contribuição à terapêutica dos condutos radiculares. Campinas, 1959. (Tese de Doutorado) Faculdade de Odontologia de Campinas-São Paulo. 87p.
- ZIELKE, D.R. HEGGERS, J.P.; HARRISON, J.W. A statisical analysis of anaerobic versus aerobic culturing in endodontic. Oral Surg., v. 42, p.8-30, 1976.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Referências Bibliográficas. Rio de Janeiro, ABNT, 1989. (NBR 6023).

Summary

Antimicrobial Efficiency of Calcium Hydroxide Pastes

The efficiency of different calcium hydroxide pastes was studied on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* and their mixture. 924 paper cones were immersed for 3 minutes in Brain Heart Infusion containing these microorganisms. The cones were completely covered with calcium hydroxide paste using as vehicles Saline, Paramonochlorophenol associated with Furacin[®], 1% Paramonochlorophenol solution, Camphorated Paramonochlorophenol, 1% Clorexidine, Flagyl[®] with saline, Otosporin[®], Lauril sodium sulphate solution, and separately by Paramonochlorophenol, Furacin[®], saline and ágar-ágar. In intervals of 1 minute, 48, 72 hours and 7 days, the cones were removed from these pastes and immersed in Letheen Brooth, incubated at 37°C from 24 to 48 hours. The study results showed that Paramonochlorophenol associated with Furacin[®] inhibited the growth of all microorganisms tested and the mixture in all experimental

periods. *S. mutans* was inactivated after 72 hours by the pastes with Flagyl[®]. Pastes with Saline, 1% PMC solution, 1% Clorexidine, Flagyl[®] and Lauril sodium sulphate solution did not eliminate *S. faecalis* in 1 minute. *S. aureus* was inactivated after 48 hours when the vehicles were Saline, 1% PMC solution and Lauril sodium sulphate solution. *P. aeruginosa* was not inactivated in 1 minute by the pastes with Flagyl, Calen[®] with PMCC, 1% PMC solution, 1% Clorexidine and Lauril sodim sulphate solution 3% and, in 48 hours, by the pastes with 1% Clorexidine, Calen[®] with PMCC and Lauril sodium sulphate solution. *C. albicans* was inaltered in 1 minute in the pastes with Saline, Calen[®] with PMCC, Flagyl[®], Lauril sodium sulphate solution and Otosporin[®].

Key Words: Calcium hydroxide, Intracanal dressing, facultative bacteria.