

DANIEL PINTO DE OLIVEIRA

**ESTUDO “IN VITRO” DA ASSOCIAÇÃO DA
CLOREXIDINA GEL 2% A AGENTES CLAREADORES
UTILIZADOS DURANTE O CLAREAMENTO
DENTAL INTERNO**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Clínica Odontológica – Área de Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Francisco José de Souza-Filho

PIRACICABA

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

Oliveira, Daniel Pinto de.

Estudo “in vitro” da associação da clorexidina gel 2% a agentes clareadores utilizados durante o clareamento dental interno. / Daniel Pinto de Oliveira. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2007.

Orientador: Francisco José de Souza Filho.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Odontologia. 2. Endodontia. 3. Dentes - Clareamento. I. Souza Filho, Francisco José de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.
(mg/fop)

Título em Inglês: *In vitro* assessment of intracoronal bleaching using 2% chlorhexidine gel associated to different bleaching agents

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Dentistry. 2. Endodontics. 3. Tooth –

Bleaching

Área de Concentração: Endodontia

Titulação: Doutor em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Francisco José de Souza Filho, Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, Patricia Moreira de Freitas, Luis Roberto Marcondes Martins, João Eduardo Gomes Filho

Data da Defesa: 31-01-2007

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica

FOLHA DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 31 de Janeiro de 2007, considerou o candidato DANIEL PINTO DE OLIVEIRA aprovado.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Francisco Jose de Souza Filho".

PROF. DR. FRANCISCO JOSE DE SOUZA FILHO

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Patricia Moreira de Freitas".

PROFa. DRa. PATRICIA MOREIRA DE FREITAS

A large, stylized handwritten signature in black ink, appearing to read "João Eduardo Gomes Filho".

PROF. DR. JOÃO EDUARDO GOMES FILHO

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes".

PROFa. DRa. BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Luis Roberto Marcondes Martins".

PROF. DR. LUIS ROBERTO MARCONDES MARTINS

DEDICATÓRIA

A **Deus**

... que me deu a vida e que foi o meu melhor amigo e conselheiro durante toda esta jornada.

À minha esposa: **Flavia**

... pelo amor, paciência, dedicação e carinho em todos os momentos.

Aos meus pais: **Aristides e Lourdes**

... pela educação que me deram, pelos valores que me ensinaram, pelo apoio e carinho de sempre.

Às minhas irmãs e cunhados: **Jamile e Alex, Maristela e Marcelo**

... pela amizade, incentivo e companherismo.

Aos meus sobrinhos: **Victor e Julia**

... pelo carinho de forma inocente e sincera

Aos meus sogros: **Walcir e Ana**

... pelo apoio, respeito, carinho e amizade.

A minha cunhada: **Fernanda**

... pela amizade e carinho de irmã.

AGRADECIMENTOS

À Direção da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, nas pessoas do Diretor **Prof. Dr. Francisco Haiter Neto** e Diretor-Associado **Prof. Dr. Marcelo de Castro Meneghim**.

Ao **Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoretí**, coordenador geral dos cursos de Pós-Graduação e **Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia**, coordenadora do curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica.

Durante esta jornada tive a felicidade de ser orientado por quatro grandes profissionais e pessoas fantásticas que contribuíram de maneira incalculável para o meu crescimento profissional. A vocês: **Prof. Dr. Caio César Randi Ferraz**, **Prof. Dr. Francisco José de Souza-Filho**, **Prof. Dr. Fabrício Batista Teixeira** e **Prof. Martin Trope** meu muito obrigado.

À **CAPES** pela concessão da bolsa de doutorado e bolsa de doutorado sanduíche no exterior.

À **FAPESP** pela concessão de auxílio à pesquisa para compra dos materiais e de alguns equipamentos utilizados neste estudo.

À **Prof^a. Dr^a. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes**, **Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia**, **Prof. Dr. Caio César Randi Ferraz** e **Prof. Dr. Francisco José de Souza-Filho**, professores da disciplina de Endodontia da FOP -UNICAMP, pelo convívio harmonioso e ensinamentos transmitidos nos seis anos de pós-graduação e dois anos de iniciação científica.

Aos professores da disciplina de Endodontia da University of North Carolina: **Martin Trope, Fabrício Batista Teixeira e Eric Rivera** pelos ensinamentos e companheirismo.

Ao **Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida** pela amizade e orientações desde meu primeiro ano de graduação.

Aos professores que participaram da banca de qualificação: **Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia, Flavio Baggio Aguiar e Morgana Eli Vianna** pela grande contribuição na correção da tese.

Ao meu cunhado **Prof. Dr. Marcelo Gonçalves** pela amizade e orientação nos momentos mais decisivos.

Aos amigos **Henrique Casseli, Fábio Mitsui e Leonardo Cunha** pela amizade incondicional.

Aos funcionários do Laboratório de Endodontia **Adaílton dos Santos Lima, Rubens Marques Payão, Maria Aparecida Dalcheco Buscariol e Denize Lumena de Pinho** pela disposição em ajudar quando foram solicitados.

Aos funcionários da disciplina de Endodontia da University of North Carolina, **Donna Perdue e Cindy** pela amizade e competência irreparável.

Às colegas **Neylla Teixeira Sena e Morgana Eli Vianna** pela ajuda na parte de microbiologia deste trabalho.

Aos colegas da pós-graduação: **Cícero Gadê, Ezilmara Rolim, Éricka Pinheiro, Ronaldo Rodrigues, Adelmo, Júlio dos Santos, Egas Muniz, Fábio Dametto, Tétis Sauaia, Renata, Douglas Cortez, Helena Rabang, Iadasa de Quadros, Rogério Castilho, Morgana Vianna, Neylla Sena, Vanessa Berber, Marcelo, José Flávio**

Almeida, Adriana de Jesus, Danna Moreira, Carol, Maraísa e Fred pelo convívio durante todo este período.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O clareamento dental interno é um método conservador, de fácil execução e baixo custo que tenta devolver a cor dos dentes anteriores escurecidos. Este estudo teve como objetivo avaliar “*in vitro*” a associação da clorexidina gel 2% ao perborato de sódio, perborato de sódio + peróxido de hidrogênio 30% e peróxido de carbamida 37% comparando com perborato de sódio + água destilada, perborato de sódio + peróxido de hidrogênio a 30%, perborato de sódio + Natrosol gel, peróxido de carbamida 37% e peróxido de hidrogênio 30%, utilizados como agentes clareadores internos quanto: capacidade clareadora; capacidade em prevenir a microinfiltração coronária; atividade antimicrobiana. Para o estudo da capacidade clareadora, foram utilizados 220 incisivos bovinos os quais foram escurecidos em plasmolizado sangüíneo e a seguir clareados utilizando os agentes clareadores estudados. A capacidade clareadora destes agentes foi avaliada através da análise de fotografias obtidas em diferentes tempos. Para o estudo da capacidade em prevenir a microinfiltração coronária, foram utilizados 110 incisivos bovinos os quais tiveram o acesso endodôntico realizado e a câmara pulpar preenchida com os agentes clareadores e selados com cimento temporário. Os dentes foram colocados em contato com saliva e o número de dias necessários para que a contaminação atingisse o canal radicular foi anotada. Para o estudo da atividade antimicrobiana dos agentes clareadores, foi utilizado o teste do halo de inibição e o teste do contato direto frente às espécies microbianas: *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*. Os resultados revelaram que após 28 dias de clareamento, todos os clareadores obtiveram níveis de clareamento semelhantes. A adição de clorexidina gel 2% aos agentes clareadores aumentou entre 8 e 16 dias o tempo necessário para a contaminação dos canais radiculares. A atividade antimicrobiana dos agentes clareadores testados revelou que a adição

de clorexidina gel 2% aumentou significativamente a atividade antimicrobiana de todos os grupos e que o microrganismo mais resistente em ambas as metodologias foi o *E. faecalis*. Conclui-se então que por não diminuir a eficácia clareadora, retardar uma possível microinfiltração coronária e aumentar a atividade antimicrobiana, a associação de clorexidina gel 2% aos agentes clareadores testados é recomendada.

Palavras-chave: 1. Odontologia. 2. Endodontia. 3. Dentes – Clareamento.

ABSTRACT

Non-vital tooth bleaching is a conservative esthetic treatment for endodontically treated discolored teeth. It is effective and relatively inexpensive. The purpose of this study was to evaluate “*in vitro*” the association of sodium perborate + 2% chlorhexidine gel comparing with sodium perborate + distilled water; sodium perborate + 30%hydrogen peroxide (H₂O₂) and 37% carbamide peroxide with and without chlorhexidine used as bleaching agents evaluating: bleaching efficacy; capacity to prevent coronal microleakage; antimicrobial activity. For the bleaching efficacy study 220 bovine incisors were artificially stained using whole blood. The samples were divided into 11 groups and the intracoronal bleaching was performed using the “walking bleach technique”. The bleaching agents were replaced three times at 7 day intervals. Using digital photos and a shade guide created for bovine teeth, the samples were evaluated at day 0, 7, 14, 21 and 28. On evaluation day, the photos were examined by 3 endodontists giving scores from 1 to 5 based on the shade guide created. For the microleakage study it was used 110 bovine incisors with endodontic access. The pulp chamber was filled with bleaching agents and sealed with temporary sealer. The teeth were immersed in saliva and the time to contaminate the root canal was annotated. For the antimicrobial activity study two different methodologies were used. Both of them evaluated the antimicrobial efficacy against three microorganisms: *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*. The zone inhibition test was performed putting the bleaching agent into stainless tubes and measuring the inhibition zone on the agar plate where the microorganisms were cultured. The contact direct test evaluated the time needed to bleaching agents to kill a microorganism. The results showed that after 28 days of bleaching, all agents exhibited similar bleaching scores. The groups that had chlorhexidine added, the time required to contaminate the root canal was

increased between 8 and 16 days. The antimicrobial activity of the bleaching agents showed that the most resistant microorganism in both methodologies was *E. faecalis* and when 2% chlorhexidine gel was added to the bleaching agents the antimicrobial activity was increased. In conclusion, as 2% chlorhexidine did not reduce the bleaching efficacy, increased the time required to a possible contamination of the root canal and increased the antimicrobial activity of bleaching agents. The association of 2% chlorhexidine to the bleaching agents tested is recommended.

Key words: 1. Dentistry. 2. Endodontics. 3. Tooth – Bleaching.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	5
2- REVISÃO DA LITERATURA.....	7
2.1 Etiologia das alterações de cor.....	7
2.2 Técnicas de clareamento dental.....	8
2.3 Efeitos adversos do clareamento dental interno.....	10
2.3.1 Reabsorção cervical externa.....	10
2.3.2 Redução da força de união entre compósitos e o dente clareado.....	12
2.4 Clorexidina gel.....	14
3- PROPOSIÇÃO.....	17
4- MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1- Efeito clareador.....	18
4.1.1-Seleção das amostras.....	18
4.1.2-Padronização das amostras.....	18
4.1.3-Divisão dos grupos.....	22
4.2- Avaliação da microinfiltração coronária.....	25
4.3.1Avaliação da atividade antimicrobiana.....	28
4.3.1- Teste de difusão em Agar.....	28
4.3.2- Teste do contato direto.....	31
5- RESULTADOS.....	33
5.1 – Efeito clareador.....	33

5.2 – Microinfiltração coronária.....	37
5.3 – Ação antimicrobiana.....	39
5.3.1 – Halo de inibição.....	39
5.3.2 – Contato direto.....	40
6- DISCUSSÃO.....	41
7- CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	50
ANEXOS.....	60

1. INTRODUÇÃO

A alteração da coloração dos dentes anteriores é um problema estético que requer um tratamento efetivo para corrigi-lo. As causas dessa alteração podem ser de origem local ou sistêmica, resultantes de causas naturais ou iatrogênicas (Walton & Rotstein, 1996).

As pigmentações de origem sistêmica tais como a fluorose endêmica, ingestão de tetraciclina, e defeitos na formação do dente, não estão relacionadas a doenças pulpares. Entretanto, as pigmentações de origem local geralmente ocorrem devido a alterações pulpares, tratamentos endodônticos ou restauradores (Walton & Rotstein, 1996).

A difusão de sangue da porção coronária da polpa para os túbulos dentinários nos casos de necrose pulpar é causa freqüente de escurecimento. Alguns produtos originados da decomposição sanguínea como hemosiderina, hemina, hematina, hematoïdina e hematoporfirina, liberam pigmentos ferrosos na hemólise. Quando esses elementos combinam com o sulfato de hidrogênio, formado por bactérias, ocorre o escurecimento dental (Rotstein *et al.*, 1993).

O clareamento dental interno tem sido realizado a mais de um século com um alto índice de sucesso (Macisaac & Hoen, 1994). A maior vantagem do clareamento dental interno é a conservação da estrutura dental, não havendo necessidade de desgastes como nos métodos restauradores (Abbott, 1996). A translucidez natural do dente é mantida e o dente geralmente retorna a sua coloração natural, similar aos dentes circunvizinhos (Caughman *et al.* 1999). Além disso, é uma técnica de baixo custo operacional e que requer pouco tempo clínico para ser executada (Abbott, 1996).

As técnicas de clareamento dental interno podem ser: termocatalíticas, “walking bleach” ou uma combinação de ambas (técnica mista) (Teixeira *et al.*, 2000). Nestas técnicas, um agente químico oxidante é colocado na câmara pulpar de dentes tratados endodonticamente. As

moléculas oxidantes são liberadas do agente clareador e se difundem através dos túbulos dentinários promovendo reações químicas que quebram permanentemente moléculas orgânicas de alto peso molecular, embora alguns dentes clareados possam se escurecer novamente depois de um período de tempo.

As razões para este novo escurecimento não estão claramente estabelecidas. Entretanto, a microinfiltração das restaurações pode agilizar este processo (Abbott, 1996).

Um problema inerente à técnica “walking bleach” é a possível reinfecção do espaço pulpar através da microinfiltração coronária na interface dente/selamento provisório (Waite *et al.*, 1998; Hosoya *et al.*, 2000). A infiltração coronária é uma fonte constante de microrganismos que podem iniciar e manter a inflamação periapical, contribuindo no insucesso do tratamento do sistema de canais radiculares (Saunders & Saunders, 1994).

Uma boa atividade antimicrobiana do agente clareador, ou do seu veículo, aliado ao selamento coronário pode retardar essa infiltração coronária a fim de obter-se uma barreira mais efetiva contra uma possível contaminação bacteriana, uma vez que na técnica “walking bleach” se recomenda trocas semanais a mensais do agente clareador (Walton & Rotstein, 1996).

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a associação da clorexidina gel 2% a diferentes agentes clareadores quanto a capacidade clareadora, capacidade em prevenir a infiltração de microrganismos e a atividade antimicrobiana.

2- REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Etiologia das alterações de cor

Desde 1924 a descoloração de estruturas dentais tem sido motivo de estudo. Neste ano, Prinz (1924) classificou as pigmentações do dente em intrínsecas (pigmentos formados dentro do dente) e extrínsecas (pigmentos adquiridos de fontes externas).

Segundo Ingle (1976), na grande maioria dos casos os pigmentos endógenos são obtidos principalmente do sangue. A hemorragia pulpar pode ter etiologias distintas, tais como o trauma dental e a pulpectomia parcial. Em ambos os casos o sangue penetra na dentina por capilaridade ou pressão hidráulica. O processo de escurecimento dental ocorre pela hemólise das hemácias que vão liberar a hemoglobina a qual contém íons de ferro que se combinarão com sulfeto de hidrogênio produzido por bactérias formando o sulfeto de ferro, o qual possui coloração preto-azulada.

Gutierrez & Gusman (1968) afirmaram que várias substâncias químicas utilizadas como medicação intra-canal como paramonoclorofenol, formocresol, eugenol, creosoto e fenol, são corantes em seu estado natural ou quando combinadas com outras substâncias.

Em 1971 Benatti & Abe estudaram o potencial de pigmentação de cinco medicamentos utilizados em Endodontia e concluíram que o eugenol foi o que causou maior alteração na coloração dos dentes. Em seguida, vieram o fenol e o paramonoclorofenol canforado. O lugol e o tricresol formalina não promoveram alterações de cor.

Walton *et al.* (1983) descreveram algumas causas de descoloração dental de origem sistêmica tais como: fatores ambientais ou genéticos, infecções, terapias com medicamentos (flúor e tetraciclina), deficiências nutricionais, desordens hematológicas (eritroblastose e talassemia), amelogênese imperfeita, displasias dentinárias, osteogênese imperfeita e porfiria

congênita.

Van der Burgt & Plasschaert (1986) sugeriram que os cimentos endodônticos com substâncias como iodofórmio, prata precipitada e eugenol fossem evitados durante a realização do tratamento endodôntico dos dentes anteriores.

Weinstein (1993) afirmou que o tipo de material utilizado para restaurar o dente tratado endodonticamente pode ter influência direta no potencial de pigmentação dental. O autor sugeriu que o uso do amálgama para restauração do acesso palatino dos dentes anteriores fosse evitado.

Segundo Hattab *et al.* (1999) o manchamento extrínseco mais frequentemente encontrado na população são as manchas de tabaco. Elas estão presentes como uma coloração marrom escura ou preta, cobrindo o terço cervical na maior parte dos dentes. Estas manchas resultam da deposição de produtos de alcatrão carbonizado na superfície dental.

2.2 Técnicas de clareamento dental interno

Prinz (1924) recomendou o uso de soluções aquecidas constituídas de perborato de sódio e Superoxol (peróxido de hidrogênio 30%) para a limpeza da câmara pulpar.

A primeira descrição da técnica “Walking Bleach” utilizando uma mistura de perborato de sódio e água destilada foi publicada por Salvas (1938). Neste procedimento a mistura devia ser deixada dentro da câmara pulpar por alguns dias e o acesso a câmara pulpar selado com cimento provisório.

Grossman (1940) descreveu a técnica termocatalítica para clareamento de dentes desvitalizados, a qual consiste da colocação de peróxido de hidrogênio a 30% dentro da câmara pulpar e ativação por meio de calor através de lâmpadas especiais ou instrumentos aquecidos.

Spasser (1961) reafirmou o conceito de Salvas (1938) ao descrever a técnica de clareamento dental interno utilizando uma pasta de perborato de sódio e água destilada a qual

deveria permanecer selada dentro da câmara pulpar por alguns dias.

A fim de acelerar o processo de clareamento, Nutting & Poe (1963) publicaram uma nova versão da técnica “Walking Bleach” a qual substituiu a água destilada por peróxido de Hidrogênio a 30% (superoxol) como veículo da pasta de perborato de sódio. A partir desta publicação, muitos estudos foram publicados com variações da técnica de clareamento comparando os resultados obtidos devido a estas variações.

Também com o objetivo de agilizar o clareamento dental interno, Weisman (1963) complementou a técnica termocatalítica descrevendo o procedimento de se deixar dentro da câmara pulpar uma “bolinha” de algodão embebida em peróxido de hidrogênio 30% durante as sessões selada com um cimento provisório (técnica mista).

Robinson em 1972 indicou um tratamento prévio da câmara pulpar através de remoção da dentina superficial com uma broca de acabamento para facilitar a penetração do agente clareador nos túbulos dentinários.

Freccia *et al.* (1982) avaliaram a capacidade clareadora das três técnicas até então propostas: termocatalítica, “walking bleach” e técnica mista. Os autores escureceram 36 dentes humanos utilizando sangue e uma centrifuga. As trocas dos agentes clareadores foram realizadas a cada 7 dias durante 4 semanas. Os resultados obtidos revelaram que não houve diferença estatisticamente significativa entre as três técnicas utilizadas.

Ingle & Tainter (1985) recomendaram a utilização de ácido fosfórico 30% e hipoclorito de sódio para remoção de “smear layer” na dentina superficial da câmara pulpar a fim de facilitar a penetração do agente clareador nos túbulos dentinários.

Putter & Jordan (1989) foram os primeiros a descrever o uso do gel de peróxido de carbamida nos casos de clareamento dental interno. Outros autores como Swift (1992) e Frazier

(1998) relataram o sucesso do uso do gel de peróxido de carbamida como agente clareador interno.

Rotstein *et al.* (1991) avaliaram a capacidade clareadora de três diferentes veículos do perborato de sódio: peróxido de hidrogênio 30%, peróxido de hidrogênio 3% e água destilada. As pastas foram colocadas na câmara pulpar e seladas com IRM. Foram feitas trocas dos agentes clareadores com 3 e 7 dias e fotografias foram obtidas no início do tratamento, 3, 7 e 14 dias após. Os resultados revelaram que não houve diferença estatística significativa entre as três pastas utilizadas.

Rotstein *et al.* (1993) avaliaram as mesmas pastas clareadoras utilizadas no estudo de 1991 quanto à manutenção da cor do dente clareado após 1 ano. Os autores concluíram que após 1 ano a maioria dos dentes manteve sua cor, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Lienberg (1997) sugeriu que os dentes com necessidade de clareamento interno fossem clareados deixando-se o acesso palatino aberto durante a realização da técnica de clareamento externo utilizando peróxido de carbamida e moldeiras. Tal técnica foi criticada por Barthel *et al.* (1999) por facilitar a penetração de microrganismos no canal radicular e pelo acúmulo de substâncias com potencial de manchamento no espaço da câmara pulpar.

Kaneko *et al.* (2000) apresentaram uma nova substância clareadora para uso odontológico denominado percarbonato de sódio. Este agente apresentou bons resultados em dentes escurecidos utilizando sulfeto de ferro. Entretanto, estudos clínicos utilizando esta substância ainda não foram relatados.

2.3 Efeitos adversos do clareamento dental interno

2.3.1 Reabsorção cervical externa

Em 1979, Harrington & Natkin foram os primeiros a relatar a ocorrência de reabsorção cervical externa após o uso de substâncias clareadoras. Estas poderiam se difundir através dos túbulos dentinários até o ligamento periodontal cervical. Neste trabalho os autores apresentaram sete casos de pacientes submetidos ao clareamento dental interno pela técnica termocatalítica e a técnica “walking bleach” utilizando peróxido de hidrogênio a 30%. As reabsorções foram detectadas entre 2 e 7 anos após o clareamento.

Em 1985, Cvek & Lindvall relataram 11 casos de reabsorção cervical externa após clareamento interno com peróxido de hidrogênio a 30% utilizando a técnica termocatalítica. Neste estudo os autores sugeriram que caso o peróxido de hidrogênio a 30% fosse o agente de escolha para a realização do procedimento clareador, uma proteção da entrada do canal radicular fosse realizada com óxido de zinco e eugenol, para prevenir a difusão do agente clareador para a dentina radicular.

Kenoe (1987) demonstrou que o pH da superfície radicular durante o clareamento dental interno utilizando peróxido de hidrogênio a 30% é reduzido a 6,5. O autor sugeriu o uso de uma pasta de hidróxido de cálcio após o término do clareamento para que o pH da região voltasse a um nível próximo no neutro (7,5).

Lado (1988) sugeriu que a confecção da base cervical fosse feita cortando-se a gutapercha aproximadamente 2 mm abaixo da junção amelo-cementária. Esta base deveria ter 2 mm de espessura e ser preparada utilizando um material inerte ao agente clareador e com boa capacidade seladora.

Rotstein *et al.* (1991b) avaliaram o papel do defeito da junção amelo-cementária (JAC) na penetração radicular de peróxido de hidrogênio a 30% durante o clareamento intracoronário. A penetração do agente clareador foi significativamente maior nos dentes com defeitos na JAC. Neste trabalho os autores sugerem que uma base protetora poderia diminuir a infiltração de

peróxido de hidrogênio para essa região.

Os mecanismos responsáveis por reabsorção em dentes clareados ainda não foram completamente explicados, entretanto, tem sido provado que pastas clareadoras que utilizam peróxido de hidrogênio são mais tóxicas para as células do ligamento periodontal quando comparadas a pastas de perborato de sódio e água (Kinomoto *et al.* 2001).

O uso do calor (técnica termocatalítica) tem sido apontado como a principal causa de reabsorção cervical decorrente do clareamento dental interno (Attin *et al.* 2003). De acordo com Dahlstrom *et al.* (1997) a aplicação de calor resulta numa degeneração do radical hidroxila do peróxido de hidrogênio que é extremamente reativo e que degrada componentes do tecido conjuntivo do ligamento periodontal.

2.3.2 Redução da força de união entre compósitos e o dente clareado

A eliminação do peróxido de hidrogênio residual após o clareamento dental parece estar relacionada à restauração adequada do dentes clareados.

Titley *et al.* (1988a) verificaram o efeito das soluções de peróxido de hidrogênio a 35% sobre a morfologia da superfície do esmalte humano. Os resultados obtidos em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostraram uma superfície porosa, o que fez os autores acreditarem que a adesão dos materiais restauradores seria aumentada. Os mesmos autores em outro estudo (Titley *et al.* 1988b) realizaram testes de tração e cisalhamento no esmalte de dentes bovinos submetidos ou não a clareamento. Os resultados revelaram uma redução significativa na resistência de união entre dente e resina nas amostras submetidas a tratamento com peróxido de hidrogênio 35%.

Torneck *et al.* (1990) relataram que o oxigênio residual do peróxido pode permanecer no esmalte, o qual poderia afetar a polimerização do material adesivo e resina composta. Segundo o estudo, acredita-se que o oxigênio é absorvido pelo esmalte e pela dentina, sendo liberado

através de difusão superficial afetando a força de união resina composta - esmalte.

Segundo Rotstein (1993) o peróxido de hidrogênio não é eliminado totalmente pela lavagem da câmara pulpar com água como usualmente se realiza na prática diária. O autor sugere o uso de uma enzima catalase a qual de acordo com seus resultados, em poucos minutos neutraliza o peróxido residual.

Barkhordar *et al.* (1997) avaliaram o efeito da técnica “walking bleach” utilizando perborato de sódio e peróxido de hidrogênio a 30% na microinfiltração de restaurações em resina composta utilizando uma solução de nitrato de prata. Os autores concluíram que quanto maior o tempo de exposição ao agente clareador, maior foi a microinfiltração do nitrato de prata na margem dente-restauração.

Segundo Swift Jr. (1999) a redução da força de união causada pelo uso dos agentes clareadores é causada pela presença de oxigênio na estrutura dental, o qual inibe a formação dos “tags” de resina no esmalte. Segundo o autor esse efeito é transitório sendo que o ideal seria a espera de duas semanas após a conclusão do clareamento. Caso isso não seja possível o autor recomenda o uso de sistemas adesivos à base de acetona ou etanol.

Teixeira *et al.* (2003) avaliaram o efeito do clareamento dental interno na microinfiltração na interface de união do compósito e dente bovino. Foram avaliadas as associações de perborato de sódio + peróxido de hidrogênio a 30%, perborato de sódio + água destilada, peróxido de carbamida a 37% e água destilada como grupo controle. Depois de clareados, os acessos palatinos foram restaurados em tempos diferentes (0, 7, 14 e 21 dias). Para os dentes restaurados imediatamente após o clareamento e 7 dias após, o grupo clareado com perborato de sódio + peróxido de hidrogênio teve um aumento na microinfiltração quando comparado aos demais grupos. Já para os dentes restaurados após 14 e 21 após o término do procedimento clareador,

não houve diferença significativa entre os agentes clareadores utilizados.

Timpawat *et al.* (2005) avaliaram a influência de diferentes agentes clareadores na força de união utilizando o sistema adesivo Clearfil SE-Bond e a resina composta Clearfil AP-X. Os agentes testados foram peróxido de hidrogênio 35%, perborato de sódio + água destilada e perborato de sódio + peróxido de hidrogênio. Os resultados revelaram que a menor influência na força de união entre a dentina da câmara pulpar e o sistema adesivo foi causada pelo grupo que utilizou perborato de sódio + água destilada, obtendo resultado similar ao grupo controle (água destilada). O grupo que utilizou perborato de sódio + peróxido de hidrogênio 35% apresentou os piores resultados.

2.4 Clorexidina gel

A clorexidina vem sendo utilizada desde 1950 como anti-séptico oral na forma de bochecho, irrigante gengival, dentifrício e goma de mascar (Jenkis *et al.* 1988).

De acordo com Jeansonne & White (1994) este agente possui amplo espectro contra bactérias gram positivas e negativas, grande habilidade em adsorver-se a mucosa e ao dente com liberação gradual e em níveis terapêuticos (substatividade) além da sua biocompatibilidade.

Siqueira & Uzeda (1997) avaliaram a capacidade antimicrobiana de diferentes substâncias utilizadas como medicação intracanal contra diferentes microrganismos comparando clorexidina na forma gel e o hidróxido de cálcio associado a diferentes agentes utilizando o método de formação de halos de inibição. Os melhores resultados foram obtidos pelos grupos que utilizaram clorexidina gel e hidróxido de cálcio associado à PMCC (Paramonoclorofenol). Os grupos com piores resultados foram obtidos com as associações hidróxido de cálcio + água e hidróxido de cálcio + glicerina.

Ferraz *et al.* (2001) avaliaram a capacidade antimicrobiana da clorexidina 2% na forma

gel contra *E. faecalis* e a limpeza das paredes do canal radicular promovida por este agente utilizado durante a instrumentação dos canais radiculares. Os resultados demonstraram uma capacidade antimicrobiana similar entre a clorexidina 2% na forma gel e o hipoclorito de sódio 5,25%. As paredes do canal radicular apresentaram níveis de limpeza satisfatórios utilizando a clorexidina gel como agente auxiliar durante a instrumentação.

Vivacqua-Gomes *et al.* (2002) avaliaram a interferência de diferentes agentes irrigantes na capacidade de selamento coronário de obturações dos canais radiculares utilizando gutapercha e um cimento a base de óxido de zinco e eugenol. Os melhores resultados foram obtidos pelos grupos irrigados com hipoclorito de sódio + EDTA e pelo grupo que utilizou clorexidina gel 2%. Os grupos que utilizaram Hipoclorito de sódio e água destilada obtiveram resultados intermediários de selamento. O grupo em que foi utilizada a associação de hipoclorito de sódio + clorexidina gel 2% obteve os piores resultados de infiltração. Os autores relacionam este resultado à formação de um precipitado marrom que se forma quando o hipoclorito de sódio entra em contato com a clorexidina. Tal precipitado se adere as paredes do canal tendo difícil remoção.

Gomes *et al.* (2003) avaliaram o tempo necessário para a recontaminação do canal radicular utilizando diferentes medicações intracanal com os dentes expostos a saliva. Foram avaliados três diferentes tipos de medicação: clorexidina gel 2%, hidróxido de cálcio + polietilenoglicol e hidróxido de cálcio + clorexidina gel 2%. Os resultados revelaram não haver diferença estatisticamente significativa entre os diferentes tipos de medicação quanto ao tempo necessário para a recontaminação dos canais.

Dametto *et al.* (2005) avaliaram o efeito antimicrobiano imediato e prolongado de diferentes soluções irrigadoras utilizadas durante o preparo químico-mecânico dos canais

radiculares contra *E. faecalis*. Logo após a instrumentação, os grupos que utilizaram hipoclorito de sódio 2,5%, clorexidina líquida 2% e clorexidina gel 2% obtiveram os melhores resultados quanto à redução de *E. faecalis* encontrados no canal radicular. Entretanto, após 7 dias os grupos tratados com clorexidina apresentaram resultados superiores ao grupo tratado com hipoclorito de sódio 2,5%, demonstrando assim a propriedade de substantividade da clorexidina.

Gomes *et al.* (2006) avaliaram a capacidade antimicrobiana da associação da clorexidina gel 2% ao hidróxido de cálcio frente a microrganismos encontrados na microbiota do canal radicular. Esta associação foi comparada associação ao hidróxido de cálcio misturado com água destilada e a clorexidina gel isolada. Foram utilizados o método de difusão em Agar e o contato direto. Os melhores resultados foram obtidos pela clorexidina gel 2%, seguidos pela associação de hidróxido de cálcio a clorexidina. A associação de hidróxido de cálcio mais clorexidina gel eliminou todos os microrganismos em 6 horas de contato, sendo que a pasta contendo hidróxido de cálcio mais água destilada precisou de 24h para eliminar todos os microrganismos testados.

3- PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar “in vitro” a associação da clorexidina gel 2% a seguintes substâncias: perborato de sódio, peróxido de carbamida a 37% e perborato de sódio + peróxido de hidrogênio a 30% (H₂O₂) utilizados como agentes clareadores internos quanto:

1. Capacidade clareadora
2. Capacidade em prevenir a microinfiltração coronária
3. Atividade antimicrobiana

4- MATERIAL E METODOS

4.1- Efeito clareador

4.1.1-Seleção das amostras

Foram utilizados neste estudo 220 incisivos bovinos, monorradiculares com canal único, ápices completamente formados e armazenados em solução de formol a 10%.

4.1.2-Padronização das amostras

Foram feitas aberturas coronárias na face palatina utilizando turbina em alta rotação e refrigeração simultânea com pontas diamantadas esféricas #1013 (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), visando à penetração na cavidade pulpar. A seguir, foram utilizadas pontas diamantadas tronco cônicas com ponta inativa #3082 (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), a fim de se obter abertura coronária quadrangular com 16 mm^2 (4 mm cada lado) (figura 1), a qual foi aferida utilizando-se um paquímetro digital (Mitutoyo, Tóquio, Japão)

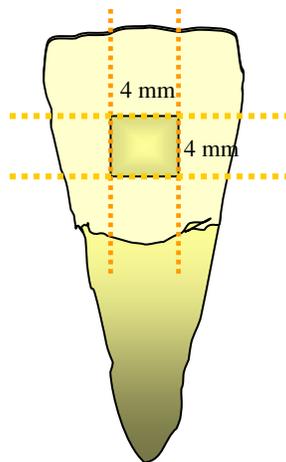


Figura 1 – Representação esquemática do acesso palatino.

Depois de abertos, os dentes tiveram suas raízes dentais removidas 2mm abaixo da junção amelo-cementária em sua porção mais apical, com o auxílio de um disco diamantado de dupla face (KG Sorensen, São Paulo, Brasil) acoplado ao micromotor e peça reta (figura 2).

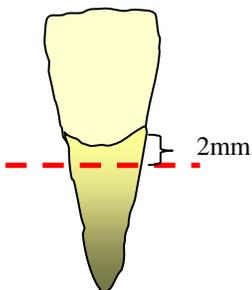


Figura 2 – Representação esquemática da remoção da raiz dental.

Depois de cortadas as raízes, as polpas coronárias foram removidas com sonda clínica e colher de dentina e a superfície externa das amostras limpas e polidas com o auxílio de taça de borracha e pedra pomes. A seguir, os espécimes foram imersos em Hipoclorito de Sódio (NaOCl) 5,25% durante 10 minutos para remoção de restos orgânicos e em Ácido Etileno Diamino-Tetracético (EDTA) 17% durante 2 minutos para promover a abertura dos túbulos dentinários (Perez *et al.*, 1993). Então, as coroas dentais foram escurecidas utilizando-se um plasmolizado sangüíneo de carneiro (Eberfarma, Araras, Brasil) utilizando metodologia similar à descrita por Freccia *et al.* (1982). Diferentemente deste estudo, o presente não utilizou centrífuga para a separação das diferentes partes constituintes do plasmolizado sangüíneo. As amostras foram imersas por 18 dias em recipientes individuais contendo 5 mL do plasmolizado sangüíneo. Os recipientes permaneceram em estufa com a tampa aberta a 37°C e o sangue de carneiro plasmolizado foi trocado diariamente.

Terminado o processo de escurecimento, os espécimes foram lavados em água corrente durante 2 horas e a superfície externa limpa e polida com o auxílio de taça de borracha e pedra pomes a fim de remover a pigmentação que se aderiu à superfície externa da amostra.

As coroas foram secas com jato de ar a fim de se realizar a confecção um tampão cervical de 2mm utilizando-se o cimento temporário Coltosol® (Coltene AG, Altstatten, Switzerland) (figura 3). Para a colocação do cimento temporário a superfície apical foi apoiada em uma placa de vidro e o cimento condensado utilizando condensadores de Paiva No. 4 e bolinhas de algodão presas em uma pinça clínica.

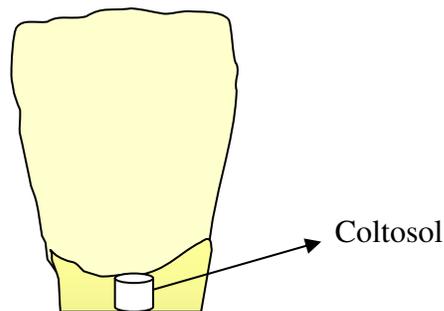


Figura 3 – Representação esquemática do tampão cervical.

A fim de se criar uma escala crescente de escurecimento própria para os dentes bovinos, 5 dentes foram escurecidos com diferenças de 48 horas no tempo de imersão em sangue. Desse modo obtivemos 5 níveis de escurecimento dental que foram utilizados como referenciais para a análise após o clareamento (tabela 1).

Tabela 1: Escala de escurecimento dos dentes bovinos de acordo com o tempo de imersão (em horas) em plasmolizado sangüíneo.

Nível de escurecimento	Tempo de imersão em sangue (dias)
1	0
2	2
3	4
4	6
5	8

Depois de escurecidos durante um período de 8 dias, os espécimes pertencentes à escala de escurecimento foram lavados em água corrente durante 2 horas e a superfície externa limpa e polida com o auxílio de taça de borracha e pedra pomes. Depois de limpos os dentes foram fotografados utilizando uma câmera digital (Cybershot 717 Sony, Flórida, USA) (baseline) (figura 4).



Figura 4 – Escala de escurecimento obtida pela imersão dos dentes em plasmolizado sangüíneo em diferentes tempos.

4.1.3-Divisão dos grupos

Depois de fotografados, os dentes foram divididos aleatoriamente em 11 grupos contendo 20 amostras cada um, sendo a câmara pulpar preenchida com diferentes soluções clareadoras, de acordo com a tabela 2.

Tabela 2: Grupos avaliados e sua composição.

Grupos	Composição
1	PS + água destilada - 2 g : 1 mL
2	PS + PH 30% - 2g : 1 mL
3	PS + 2% CX gel - 2g : 1 mL
4	PS + NT gel - 2g : 1 mL
5	PS + PH 30% + 2% CX gel - 4g : 1mL : 1 mL
6	PC 37%
7	PC 37% + CX gel 2% - 2g : 1 mL
8	PH 30%
controle 1	CX gel 2%
controle 2	NT gel
controle 3	Água destilada

PS = perborato de sódio (Proderma, Piracicaba, Brasil)

PH = peróxido de hidrogênio (Proderma, Piracicaba, Brasil)

CX = clorexidina (Proderma, Piracicaba, Brasil)

NT = natrosol (Proderma, Piracicaba, Brasil) (gel base da clorexidina gel 2%)

PC = peróxido de carbamida (Super Endo; Whiteness, Porto Alegre, Brazil)

A seguir, a câmara pulpar foi posteriormente selada com uma camada de 2mm de Coltosol[®]. Os agentes clareadores foram trocados a cada 7 dias durante um período total de 28 dias. Durante este período, os espécimes permaneceram em estufa a 37°C em ambiente úmido. Uma nova fotografia foi realizada a cada troca do agente clareador, totalizando cinco fotografias, em tempos diferentes, para cada espécime.

A fim de se manter a padronização das fotografias, foi utilizada sempre a mesma câmera nas mesmas condições de luminosidade. Um total de 550 fotografias foi obtido. As fotografias foram projetadas em slides com 4 fotografias escolhidas aleatoriamente em cada slide e com a escala de cores na parte inferior da tela (figura 5) . Cada slide foi apresentado por 30 segundos. Após sessão de calibração, três examinadores atribuíram escores de acordo com a escala de escurecimento (tabela 1). Os valores atribuídos foram tabulados e a concordância entre os examinadores avaliada pelo Teste Kappa. A análise estatística foi realizada utilizando os testes de Kruskal-Wallis e de Friedman com nível de significância de 5% utilizando o programa Biostat 2.0 (CNpQ, Brasília, Brasil).



Figura 5 - Exemplo de slide avaliado pelos 3 examinadores. Acima observamos 4 fotografias escolhidas aleatoriamente e abaixo a escala utilizada para avaliação com os níveis de 5 a 1.

4.2- Avaliação da microinfiltração coronária

Foram utilizados neste estudo 110 incisivos superiores bovinos, monorradiculares com canal único, ápices completamente formados, armazenados em solução de formol a 10%, sendo que a padronização das amostras foi feita de maneira similar à utilizada no estudo do efeito clareador, com exceção do corte radicular que foi feito 5mm abaixo da junção amelo-cementária (figura 6). Os 3 mm mais apicais da raiz foram preenchidos com algodão, a fim de suportar a confecção de um tampão cervical de 2 mm de Coltosol[®].

A metodologia utilizada para avaliar infiltração coronária foi baseada na técnica descrita por Siqueira *et al.* (1999).

Foram utilizados neste experimento frascos de vidro de 10 mL com tampas de borracha. As tampas foram perfuradas com brocas esféricas permitindo que os dentes fossem inseridos e adaptados com porção apical exposta (figura 6). Posteriormente, foi feito selamento com adesivo de éster de cianoacrilato (Super Bonder, Loctite, Itapevi, Brasil) entre o dente e a tampa para que não houvesse espaços para uma possível contaminação através da interface dente/tampa de borracha.

Mangueiras plásticas autoclaváveis foram cortadas com a finalidade de se criar cilindros que adaptados às tampas de borracha, formaram um reservatório em torno da coroa dos dentes (figura 6).

Os frascos de vidro de 10mL foram preenchidos com 8mL de meio de cultura Brain Heart Infusion (BHI), preparado de acordo com as normas do fabricante (Lab M, Bury, UK). Estes frascos foram parcialmente fechados com as tampas de borracha previamente adaptadas com os dentes, e autoclavados à temperatura de 121° C por 15 minutos.

Em condições assépticas, trabalhando-se em câmara de fluxo laminar, os vidros foram

totalmente fechados com ajuda de gases estéreis de forma que a porção mais apical da raiz permanecesse em contato com o BHI. Em seguida, foi feito o vedamento entre tampa de borracha e vidro com filme de parafina e, reforçou-se o vedamento entre dente e tampa, novamente com éster de cianoacrilato.

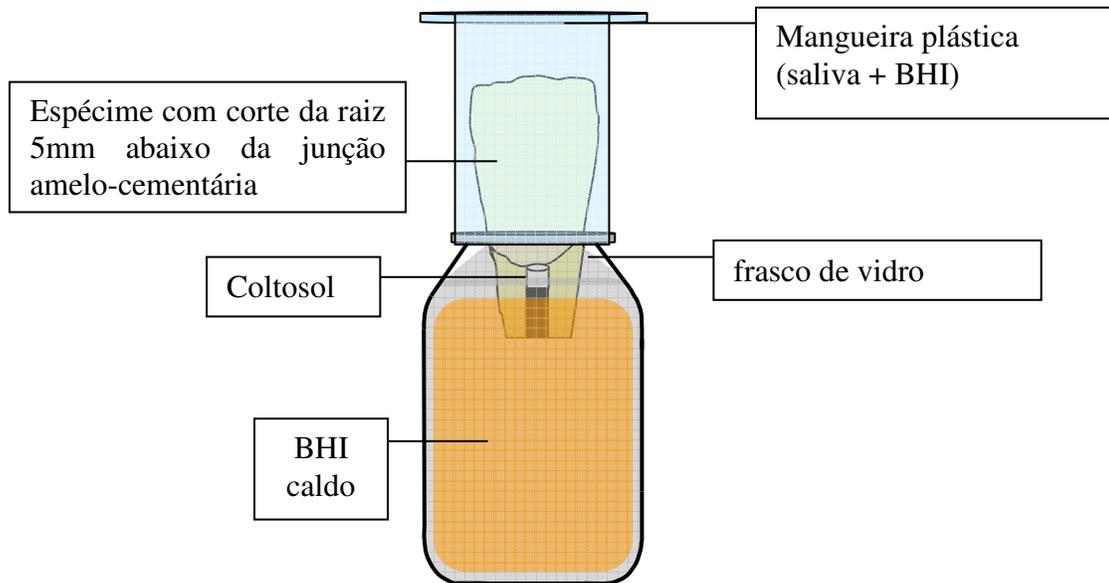


Figura 6 – Representação esquemática do aparato para teste de microinfiltração coronária (Siqueira *et al.*, 1999).

O conjunto foi incubado a 37°C e mantido por 24 horas para verificação se houve ou não contaminação do meio de cultura durante o procedimento de montagem do aparato.

Confirmada a esterilidade do conjunto, os dentes foram novamente levados à câmara de fluxo laminar para que os agentes clareadores fossem aplicados.

Os conjuntos foram divididos aleatoriamente em 11 grupos contendo 10 amostras cada um obedecendo à mesma divisão de grupos estabelecida para o estudo do efeito clareador (tabela 2).

Depois de preenchida a câmara pulpar com o agente clareador ou agente controle, o acesso palatino foi selado com uma camada de 2mm de Coltosol[®].

A seguir, o reservatório (mangueira plástica) de cada conjunto foi preenchido com uma mistura de 3mL contendo saliva humana de um único indivíduo (colhida sempre no mesmo horário sem estimulação por gomas de mascar) e BHI caldo na proporção de 3:1, de modo que esta mistura recobrisse totalmente a coroa dos dentes. A fim de promover uma renovação dos microrganismos a solução de BHI+saliva era trocada a cada três dias. Os frascos foram incubados a 37°C e verificados diariamente quanto à turbidez do meio de cultura, que demonstrava contaminação. O número de dias até a alteração do meio foi anotado e indicava desse modo o tempo gasto para penetração de microrganismos, oriundos da saliva, através do selamento coronário, agente clareador e tampão cervical, atingindo o meio de cultura. Os dados foram organizados em uma tabela e analisados estatisticamente pelo Teste Anova one-way e Tukey com nível de significância de 5% utilizando o programa Biostat 2.0 (CNPQ, Brasília, Brasil).

4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

Outra avaliação realizada foi da atividade antimicrobiana utilizando-se os mesmos grupos testados nos estudos de efeito clareador e de infiltração coronária. Devido à limitação do trabalho *in vitro* como a dificuldade de difusão de alguns agentes no ágar foram utilizadas duas metodologias distintas.

4.3.1- Teste de difusão em ágar

O teste de difusão de ágar empregado seguiu a metodologia descrita por Koo *et. al* 2000 e adaptada por Vianna 2002.

Foram testadas as espécies microbianas: *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus mutans*. Além destes, foi testado um fungo do gênero *Candida*: *Candida albicans*.

Estes foram subcultivados em placas de BHI Agar (BHIA) e incubados por 18-24 h a 37°C em estufa de CO₂.

Após crescimento em meio sólido, colônias isoladas foram suspensas em tubos contendo 5 mL de solução estéril de NaCl a 0.85%. Após agitação mecânica, a suspensão foi ajustada em espectrofotômetro com absorvância de 800 nm, até atingir a concentração equivalente a 0.5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ bactéria/mL).

Os testes foram realizados em sextuplicata pelo método de camada dupla. Inicialmente foram preparadas placas (140 x 25mm) contendo 40 mL de Miller-Hinton (Lab M, Bury, UK) que serviram de base para a camada de inóculo, que foi preparada a seguir (figura 7).

Quarenta mL de BHIA foram preparados e autoclavados em frascos de vidro com tampas rosqueáveis. Durante o processo de resfriamento, quando o BHIA atingia 45°C, ainda em estado líquido, se adicionava 400µL do inóculo microbiano e agitação uniforme do conjunto. O BHIA

passava a ter, portanto, 1% de inóculo microbiano, e era então distribuído sobre a camada sólida de Miller-Hinton.

Após a solidificação dos meios de cultura, tubos de inox estéreis com 6 mm de largura interna, 8 mm de largura externa e 10 mm de altura, foram colocados sobre a superfície do Agar. Cada tubo foi preenchido com 40 μ L de cada solução a ser testada. As placas foram então mantidas por 2 h à temperatura ambiente para permitir a difusão das soluções no Agar.

As placas foram então incubadas a 37°C em condições gasosas apropriadas por 48h. Após este período foi realizada a leitura dos halos de inibição em milímetros (figura 8).

A menor distância entre o cilindro metálico e o início do crescimento do microrganismo foi medida com o auxílio de paquímetro milimetrado.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o teste Kruskal-Wallis ($p < 0.05$) e complementado pelo Teste de Dunn ($p < 0.05$) através do programa Biostat 2.0.

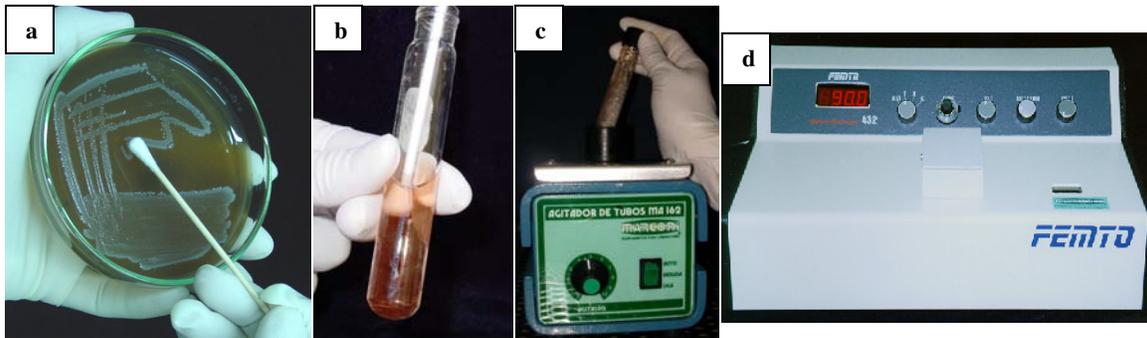


Figura 7- Preparo do inóculo.

- a) Microrganismos cultivados em BHIA
- b) Suspensão em tubo de ensaio contendo solução estéril de NaCl a 0.85%
- c) Agitação
- d) Ajuste da concentração no espectrofotômetro

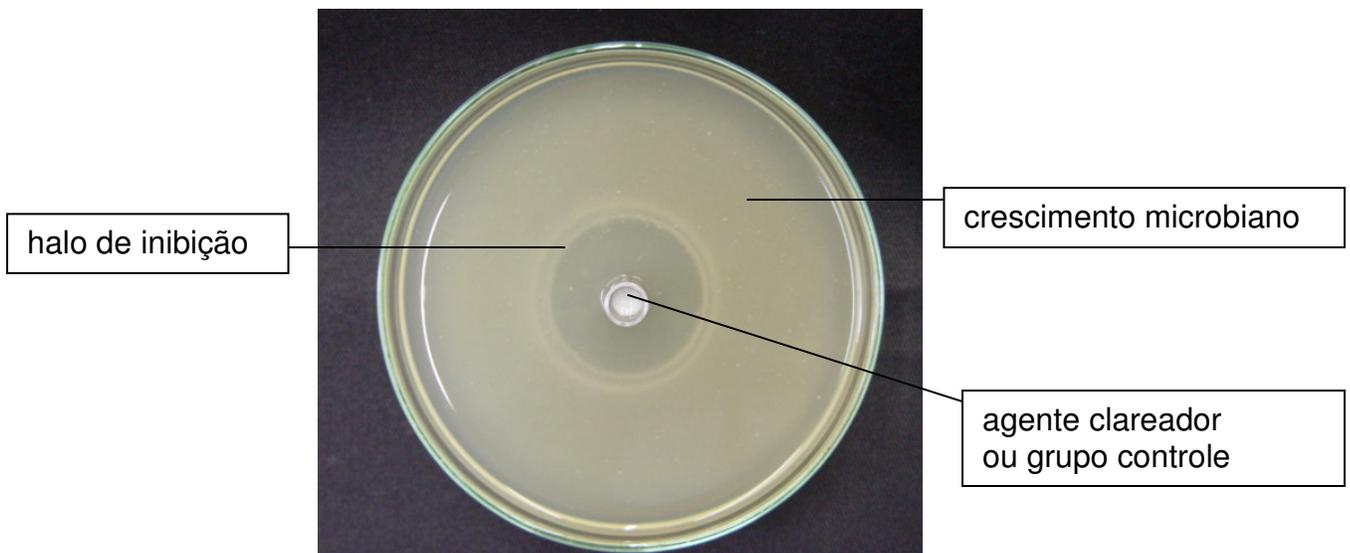


Figura 8- Exemplo de placa obtida após a incubação por 48h. No centro da placa observa-se o tubo de inóx preenchido pelo agente clareador e a presença de halo de inibição de crescimento microbiano.

4.3.2- Teste do contato direto

O teste do contato direto empregado seguiu a metodologia descrita por Siqueira & Uzeda (1998) e adaptada por Vianna (2002).

Os microrganismos testados foram os mesmos do teste de difusão em agar: *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*.

Estes foram subcultivados em placas de BHI Ágar e incubados por 18-24 h a 37°C em estufa de CO₂ (anaeróbios facultativos).

Após crescimento em meio sólido, colônias isoladas foram suspensas em tubos contendo 5 mL de solução estéril de NaCl a 0.85%. Após agitação mecânica, a suspensão foi ajustada em espectrofotômetro com absorvância de 800 nm, até atingir a concentração equivalente a 0.5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ bactéria/mL) (figura 7).

Para avaliar o efeito antimicrobiano dos diferentes agentes clareadores e controles, os testes foram realizados em sextuplicata, ou seja, para cada período de tempo, microrganismo e agente testado foram utilizados 6 poços.

Um mL de cada agente clareador ou controle foi colocado no fundo dos poços de placas de cultura de células contendo 24 poços (Corning Cell Culture Cluster, Corning, NY). A seguir, 2 mL do inóculo foi colocado em contato com as substâncias a serem testadas. A mistura foi agitada e foram aguardados os tempos de 15, 30, 45 segundos, 1, 3, 5, 10, 20, 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48 horas e 7 dias. Após cada período, foi retirado 1 mL de cada poço e levado para tubos contendo BHI os quais continham os neutralizadores dos agentes clareadores. Os neutralizadores foram tiosulfato de sódio 0,6% para os agentes clareadores contendo perborato de sódio e peróxido de carbamida e; tween 80 a 0,5% + lecitina soja a 0,07% para os agentes clareadores contendo clorexidina gel a 2% (Vianna 2002).

Alíquotas de 10µL da mistura (inóculo + agente testado + neutralizador) foram plaqueadas em placas de BHI ágar acrescidos de 5% de sangue de carneiro desfibrinado. A interpretação dos resultados foi através do crescimento nas placas de ágar sangue. A pureza das culturas positivas foi confirmada através da morfologia das colônias nas placas de ágar sangue, coloração de Gram, e por métodos bioquímicos utilizando kits de identificação microbiana (*Enterococcus faecalis* e *Streptococcus mutans*: API 20 Strep; *Candida albicans*: API C AUX – todos da BioMérieux, Marcy-l’Etoile, França).

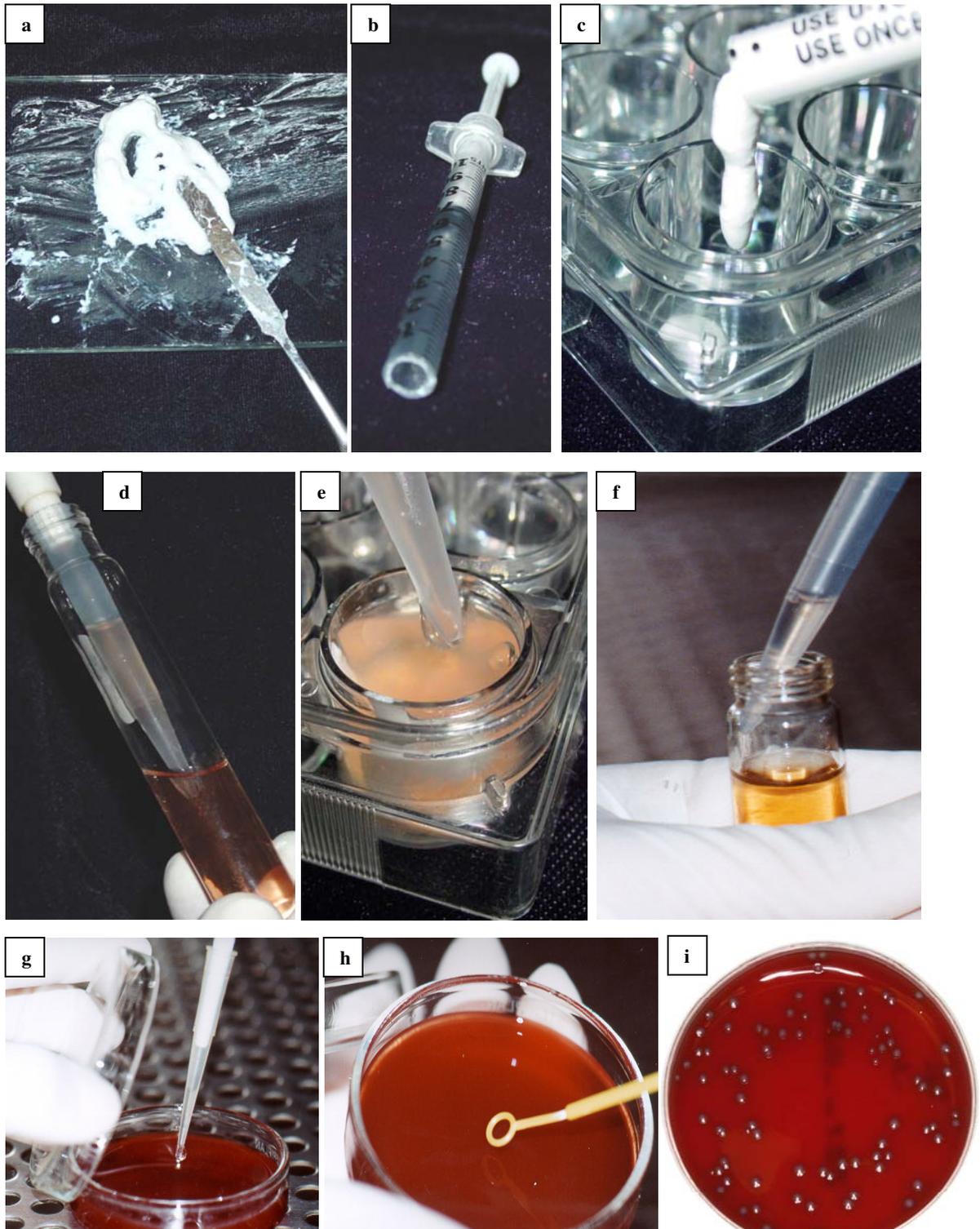


Figura 9- Método do contato direto.

a) Espatulação dos agentes clareadores **b)** Colocação dos agentes testados em seringa adaptada **c)** Colocação dos agentes clareadores nos poços de cultura de célula **d)** Coleta de 2 mL do inóculo **e)** Mistura e agitação do agente clareador + inóculo **f)** Colocação de 1 mL da mistura no BHI + neutralizador **g)** 10µL da mistura (inóculo + agente testado + neutralizador) **h)** Plaqueamento **i)** Exemplo de cultura positiva

5. RESULTADOS

5.1 – EFEITO CLAREADOR

As médias dos ranks dos valores atribuídos para os grupos nos 5 dias avaliados estão presentes na Tabela 3. Em todos os grupos experimentais foi possível observar que no quinto dia da avaliação as amostras clarearam. Da mesma forma foi possível observar que entre o dia 1 e o dia 2 nenhum dos grupos apresentou diferença estatisticamente significativa. Os grupos controles não apresentaram alteração de cor durante todo o período de avaliação.

Os postos médios dos escores atribuídos para os grupos em cada dia avaliado estão presentes na Tabela 4. Os grupos que utilizaram como veículo do perborato de sódio uma base gel (grupos 3 e 4) apresentaram um efeito clareador mais lento quando comparados aos grupos que utilizaram veículo líquido (grupos 1 e 2). No terceiro dia de avaliação os grupos clareados com peróxido de carbamida 37% não tiveram diferença estatisticamente significantes quando comparados aos grupos que utilizaram perborato de sódio com diferentes veículos. No quarto dia de avaliação não houve diferença estatística entre todos os grupos experimentais exceto no grupo 8 (peróxido de hidrogênio 30%), o qual apresentou nível de clareamento inferior aos demais grupos. No quinto dia de avaliação todos os grupos experimentais obtiveram escores de clareamento sem diferença estatística significativa entre si.

Tabela 3. Resultado em médias dos Ranks da análise de diferenças entre os dias de avaliação dentro do mesmo agente clareador pelo teste de Friedman (comparação apenas em linhas).

Grupos	Dias				
	1	2	3	4	5
1- PS + água destilada	5 ^a	4 ^{ab}	2,92 ^{bc}	1,57 ^{cd}	1,50 ^d
2- PS + PH	5 ^a	4 ^a	2,1 ^b	1,95 ^b	1,95 ^b
3- PS + CX	4,97 ^a	4,02 ^{ab}	3 ^b	1,55 ^c	1,45 ^c
4- PS + NT	5 ^a	4 ^{ab}	2,97 ^b	1,57 ^c	1,45 ^c
5- PS + PH +CX	5 ^a	4 ^a	2,15 ^b	1,92 ^b	1,92 ^b
6- PC	5 ^a	4 ^{ab}	3 ^b	1,5 ^c	1,5 ^c
7- PC + CX	5 ^a	4 ^{ab}	3 ^b	1,55 ^c	1,45 ^c
8- PH	5 ^a	3,95 ^{ab}	3,05 ^{bc}	1,95 ^{cd}	1,05 ^d
C 1- CX	3 ^a	3 ^a	3 ^a	3 ^a	3 ^a
C2- NT	3 ^a	3 ^a	3 ^a	3 ^a	3 ^a
C3- Água destilada	3 ^a	3 ^a	3 ^a	3 ^a	3 ^a

Médias seguidas por letras distintas indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

PS = perborato de sódio, PH = peróxido de hidrogênio 30%, CX = clorexidina gel 2%,

NT = natrosol gel, PC = peróxido de carbamida 37%

Tabela 4. Resultados em postos médios da análise das diferenças entre os clareadores dentro do mesmo dia de avaliação pelo teste de Kruskal-Wallis e Dunn (comparação apenas colunas).

Grupos	Dias				
	1	2	3	4	5
1- PS + água destilada	110,5 ^a	28,07 ^c	71,22 ^c	70,97 ^b	79 ^b
2- PS + PH	110,5 ^a	33,45 ^c	24,05 ^c	67 ^b	79 ^b
3- PS + CX	110,5 ^a	112,57 ^b	135,72 ^{ab}	74,95 ^b	79 ^b
4- PS + NT	110,5 ^a	108,50 ^b	80,05 ^{bc}	74,95 ^b	79 ^b
5- PS + PH + CX	110,5 ^a	37,40 ^c	26,82 ^c	67 ^b	79 ^b
6- PC	110,5 ^a	108,50 ^b	83,07 ^{bc}	67 ^b	79 ^b
7- PC + CX	110,5 ^a	108,50 ^b	86,10 ^{bc}	74,95 ^b	79 ^b
8- PH	110,5 ^a	108,50 ^b	136,95 ^{ab}	147,17 ^a	91 ^b
C1- CX	110,5 ^a	190 ^a	190,5 ^a	190,5 ^a	190,5 ^a
C2- NT	110,5 ^a	190 ^a	190,5 ^a	190,5 ^a	190,5 ^a
C3- Água destilada	110,5 ^a	190 ^a	190,5 ^a	190,5 ^a	190,5 ^a

Médias seguidas por letras distintas indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

PS = perborato de sódio, PH = peróxido de hidrogênio 30%, CX = clorexidina gel 2%,
NT = natrosol gel, PC = peróxido de carbamida 37%

5.2 – MICROINFILTRAÇÃO CORONÁRIA

As médias e desvio-padrão dos dias necessários para contaminação do canal radicular em função dos grupos testados estão presentes na tabela 5.

Nenhum dos agentes clareadores testados impediu a penetração bacteriana em direção ao canal radicular. O número de dias necessários para que esta contaminação ocorresse variou de acordo com o agente clareador empregado, sendo o grupo 8 (PH 30%) o que sofreu contaminação no menor período de tempo (12,70 dias em média). Dentre os grupos que utilizaram um agente clareador, o grupo que obteve os melhores resultados, retardando o tempo de contaminação do canal radicular, foi o que empregou perborato de sódio + Clorexidina gel 2% (grupo 3). Comparando este grupo ao que utilizou água destilada como veículo do perborato de sódio (grupo 1), houve um aumento de 15,3 dias em média no tempo necessário para a contaminação do canal radicular. O grupo que teve adição de clorexidina ao peróxido de carbamida (grupo 7), teve um acréscimo de 8,25 dias em média em relação ao grupo de peróxido de carbamida (grupo 6).

Tabela 5. Médias e desvio-padrão do tempo em dias necessário para contaminação em função dos grupos testados.

Grupo	Média (desvio-padrão) em dias
1- PS + água destilada	15,95 (1,14) ^f
2- PS + PH 30%	18,00 (1,12) ^e
3- PS + 2% CX gel	31,25 (1,55) ^a
4- PS + NT gel	17,20 (1,10) ^e
5- PS + PH 30% + 2% CX gel	29,00 (1,29) ^{bc}
6- PC 37%.	19,30 (1,12) ^d
7- PC 37% + CX gel 2%	27,55 (1,50) ^c
8- PH 30%.	12,70 (1,03) ^g
C 1- CX gel 2%	30,52 (1,57) ^{ab}
C2- NT gel.	9,35 (0,67) ^h
C3- Água destilada.	7,25 (0,78) ⁱ

PS = perborato de sódio, PH = peróxido de hidrogênio 30%, CX = clorexidina gel 2%, NT = natrosol gel, PC = peróxido de carbamida 37%

Médias seguidas por letras distintas indicam diferença estatística significativa pelos testes de Anova 1-critério e Tukey (p<0,05).

5.3 – AÇÃO ANTIMICROBIANA

5.3.1 – HALO DE INIBIÇÃO

As médias dos halos de inibição em milímetros dos diferentes microrganismos quando expostos aos diferentes tratamentos estão presentes na tabela 6. Todos os agentes clareadores testados apresentaram formação de halo de inibição. Os grupos que tiveram a adição de clorexidina gel 2% na sua composição apresentaram os maiores halos de inibição. Independente do agente clareador testado, o *E. faecalis* foi o microrganismo mais resistente, promovendo os menores halos de inibição.

Tabela 6. Médias dos halos de inibição em milímetros dos diferentes microrganismos quando expostos aos diferentes tratamentos.

Microrganismo \ Grupo	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
1- PS + água destilada	4.5 (\pm 0.44) ^{cd B}	8.83 (\pm 0.68) ^{bc A}	1.66 (\pm 0.25) ^{cd C}
2- PS + PH	4.66 (\pm 0.25) ^{bcd B}	9.66 (\pm 0.51) ^{abc A}	2.0 (\pm 0.44) ^{bc C}
3- PS + CX	7.16 (\pm 0.25) ^{abc B}	14.83 (\pm 0.25) ^{a A}	6.66 (\pm 0.25) ^{a B}
4- PS + NT	4.16 (\pm 0.25) ^{de B}	8.33 (\pm 0.51) ^{c A}	2.0 (\pm 0) ^{bc C}
5- PS + PH + CX	7.66 (\pm 0.5) ^{ab B}	14.33 (\pm 0.51) ^{ab A}	6.16 (\pm 0.25) ^{a B}
6- PC	4.0 (\pm 0) ^{de B}	7.5 (\pm 0.44) ^{cd A}	1.83 (\pm 0.25) ^{bc C}
7- PC + CX	8.83 (\pm 0.25) ^{a B}	14.83 (\pm 0.93) ^{a A}	5.33 (\pm 0.51) ^{ab C}
8- PH	4.83 (\pm 0.68) ^{bcd B}	7.33 (\pm 0.51) ^{cd A}	1.16 (\pm 0.25) ^{cd C}
C1- CX	8.16 (\pm 0.68) ^{a B}	14.16 (\pm 0.93) ^{ab A}	4.83 (\pm 0.25) ^{ab C}
C2- NT	0 (\pm 0) ^{e A}	0 (\pm 0) ^{d A}	0 (\pm 0) ^{d A}
C3- Água destilada	0 (\pm 0) ^{e A}	0 (\pm 0) ^{d A}	0 (\pm 0) ^{d A}

PS = perborato de sódio, PH = peróxido de hidrogênio 30%, CX = clorexidina gel 2%, NT = natrosol gel, PC = peróxido de carbamida 37%

Médias seguidas por letras distintas indicam diferença estatística significativa pelos testes Kruskal-Wallis $p < 0,05$ e Dunn $p < 0,05$. Letras maiúsculas indicam diferenças na direção horizontal. Letras minúsculas indicam diferenças na direção vertical.

5.3.2 – CONTATO DIRETO

O tempo de contato em minutos requerido para produzir culturas negativas para os diferentes microrganismos testados está apresentado na tabela 7. Nos grupos onde a clorexidina gel 2% foi associada aos agentes clareadores, foi necessário um tempo de contato menor para que o agente clareador apresentasse atividade antimicrobiana. Dentre os grupos que utilizaram um agente clareador, o que apresentou os melhores resultados foi o grupo 3 (PS + CX) independente do microrganismo testado. Os piores resultados para todos os microrganismos avaliados foram obtidos pelo grupo 6 (PC). A espécie mais resistente independente do agente clareador utilizado foi o *E. faecalis* e a mais sensível foi a *Cândida albicans*.

Tabela 7. Tempo de contato em minutos requerido para produzir culturas negativas para os diferentes microrganismos testados.

Microrganismo	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
Grupo			
1- PS + água destilada	10 (c, B)	5 (b, A)	20 (b, C)
2- PS + PH	5 (b, A)	3 (b, A)	20 (b, B)
3- PS + CX	3 (a, AB)	1 (a, A)	5 (a, B)
4- PS + NT	10 (c, B)	5 (b, A)	20 (b, C)
5- PS + PH + CX	3 (a, AB)	1 (a, A)	5 (a, B)
6- PC	15 (d, B)	10 (c, A)	30 (c, C)
7- PC + CX	3 (a, AB)	1 (a, A)	5 (a, B)
8- PH	5 (b, A)	3 (a, A)	20 (b, B)
C1- CX	0,5 (a, A)	0,25 (a, A)	1 (a, B)
C2- NT	7 dias (e, A)	7 dias (d, A)	7 dias (d, A)
C3- Água destilada	7 dias (e, A)	7 dias (d, A)	7 dias (d, A)

PS = perborato de sódio, PH = peróxido de hidrogênio 30%, CX = clorexidina gel 2%, NT = natrosol gel, PC = peróxido de carbamida 37%

Médias seguidas por letras distintas indicam diferença estatística significativa pelos testes Kruskal-Wallis $p < 0.05$. Letras minúsculas indicam diferenças na direção vertical. Letras maiúsculas indicam diferenças na direção horizontal.

6- DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou diferentes agentes clareadores utilizados durante o clareamento dental interno, associados ou não a clorexidina gel 2%, substância química antimicrobiana utilizada com o objetivo de aumentar as propriedades antimicrobianas destes agentes clareadores. Foram utilizadas três metodologias distintas: para avaliar a capacidade clareadora, a capacidade em prevenir ou minimizar a microinfiltração coronária e a atividade antimicrobiana destes agentes pela difusão em Agar e pelo teste do contato direto.

No estudo do efeito clareador, a efetividade de diferentes agentes clareadores e diferentes combinações de veículos foi avaliada em dentes bovinos escurecidos artificialmente. A escolha deste método foi para simular a maior causa de descoloração dos dentes humanos de acordo com Rotstein *et al.* (1993). Apesar de estudos na literatura mencionarem o papel das bactérias no processo de escurecimento dental, no presente estudo, não foram utilizados microrganismos para tal finalidade. Outros estudos relacionados à clareamento dental interno também empregaram sangue e metodologia muito similar (Ho & Goerig, 1989; Rotstein *et al.* 1991c; Costas & Wong 1991; Weiger *et al.* 1994; Horn *et al.* 1998b). Entretanto, os resultados do estudo do efeito clareador não podem ser aplicados a todos os tipos de descoloração dental. O clareamento de dentes escurecidos obtém maiores níveis de sucesso em dentes recém escurecidos quando comparados a dentes escurecidos há muito tempo (Brown, 1965). Na literatura, alguns trabalhos relacionados a clareamento dental interno utilizaram dentes bovinos conseguindo-se obter condições e resultados confiáveis (Torneck *et al.* 1990; Rotstein *et al.* 1992b; Heling *et al.* 1995).

Em condições clínicas, é de fundamental importância uma avaliação clínica e radiográfica do tratamento endodôntico antes do início do procedimento clareador. Caso seja necessário, o retratamento endodôntico deve ser realizado previamente ao clareamento e pode-se na seqüência

da nova obturação confeccionar-se o tampão cervical que será utilizado para a realização do clareamento dental interno. Este selamento terá como objetivo restringir o agente clareador à câmara a fim de se evitar uma possível reabsorção cervical externa (Smith *et al.*, 1992).

Uma recente revisão da literatura a respeito do clareamento dental interno recomendou o uso de perborato de sódio e água destilada como agentes clareadores internos e contra-indicaram o uso do peróxido de hidrogênio a 30% ou aplicação de calor (técnica termocatalítica). Nesta revisão foram analisados diversos artigos científicos os quais relacionaram a ocorrência de reabsorção cervical externa ao uso tanto do peróxido de hidrogênio 30% quanto à aplicação de calor (Attin *et al.*, 2003). Alguns autores têm descrito a eficácia do uso do peróxido de carbamida gel como agente clareador interno (Putter & Jordan, 1989; Swift, 1992; Frazier, 1998; Teixeira *et al.*, 2004). No presente estudo foi encontrado que após 4 semanas do início do tratamento clareador a eficácia do peróxido de hidrogênio 30% e do peróxido de carbamida gel foram similares. Isto pode estar relacionado a um excesso de agente ativo no peróxido de hidrogênio 30% o que teria a possibilidade de se difundir pela raiz causando problemas na região do ligamento periodontal. Outra possibilidade é que o peróxido de carbamida tenha um poder de penetração na dentina menor que o peróxido de hidrogênio (Cooper *et al.*, 1992).

O clareamento dental interno só é possível graças à permeabilidade da estrutura dental aos agentes clareadores (Hanks *et al.* 1993). No entanto, a capacidade de difusão depende de vários fatores como: natureza do agente clareador, natureza do tecido dental, área de superfície exposta, espessura de dentina remanescente, presença de “smear layer” e a temperatura (Rotstein, 1991c). Segundo Pashley & Livingston (1978), dentes mais velhos com túbulos dentinários de diâmetros menores são menos permeáveis que dentes jovens com túbulos de diâmetros maiores. Como neste estudo foram utilizados dentes bovinos e estes apresentam

estruturas proporcionalmente maiores que os dentes humanos, optou-se não utilizar agentes quelantes como ácido fosfórico ou EDTA previamente a colocação do agente clareador na câmara pulpar, porém foi utilizada a associação de hipoclorito de sódio 5,25% + EDTA antes do processo de escurecimento a fim de facilitar a penetração do sangue nos túbulos dentinários.

Dentre as técnicas avaliadas neste estudo, devido à literatura ter mostrado a relação entre aplicação de calor e a ocorrência de reabsorção cervical externa, não foi avaliada nenhuma técnica termocatalítica.

A clorexidina na forma gel tem sido sugerida como medicação intracanal (Siqueira & Uzeda, 1997; Gomes *et al.*, 2006) e como agente auxiliar durante a instrumentação dos canais radiculares (Ferraz *et al.*, 2001; Vianna *et al.*, 2004). A base gel utilizada no presente estudo foi o Natrosol o qual é um composto inerte e hidrossolúvel (Miyamoto *et al.*, 1989). O Natrosol é uma hidroximetilcelulose utilizada como veículo da clorexidina gel (Ferraz *et al.*, 2001). A metilcelulose é um veículo aquoso (Fava & Saunders, 1999) e tem sido estudada por alguns autores no preparo de pastas de hidróxido de cálcio (Stevens & Grossman, 1993; Stuart *et al.*, 1991; Beltes *et al.*, 1997). Stevens & Grossman (1993) não encontraram diferença estatisticamente significativa na ação antimicrobiana frente ao “*Streptococcus faecalis*” das pastas de hidróxido de cálcio manipuladas com água destilada ou metilcelulose. Isso ocorre, pois a capacidade de ionização da metilcelulose é semelhante à da água, uma vez que a liberação de íons OH⁻ em ambas as pastas não é estatisticamente diferente (Beltes *et al.*, 1997). A capacidade ionizante da metilcelulose nas pastas de hidróxido de cálcio demonstra o potencial desta substância em promover a dissociação do perborato de sódio em seus agentes ativos. O perborato de sódio é encontrado na forma de pó estável a seco. Quando associado a um ácido, ar quente ou água, se decompõe formando metaborato de sódio, peróxido de hidrogênio e oxigênio nascente

(Weiger *et al.*, 1994).

O presente estudo demonstrou que a velocidade de clareamento foi diferente entre os grupos. Entretanto, todos os grupos que utilizaram algum agente clareador mostraram capacidade clareadora similar após três trocas dos agentes clareadores. Os grupos que utilizaram perborato de sódio com veículos na forma gel (grupo 3- PS + CX e grupo 4- PS + NT) o processo clareador foi mais lento quando comparados aos que utilizaram veículos líquidos (grupos 1 e 2). Este resultado é similar a outros estudos que utilizaram o Natrosol como veículo em pastas de hidróxido de cálcio, mostrando que o poder de ionização de veículos na forma gel é mais lento que veículos líquidos (Stevens & Grossman, 1983; Stuart *et al.* 1991). No grupo 5 (PS + PH + CX), em que a uma associação de veículos foi utilizada (líquido + gel) a velocidade de clareamento foi similar aos grupos que utilizaram veículo líquido para o perborato de sódio (grupo 1- PS + água destilada e grupo 2- PS + PH).

A literatura relacionada aos veículos do perborato de sódio é bastante controversa. Alguns autores têm mostrado que alguns efeitos indesejados causados na estrutura dentinária são influenciados pelo veículo do perborato de sódio (água destilada ou peróxido de hidrogênio) (Kawamoto & Tsujimoto, 2004). Outros autores têm mostrado que o veículo do perborato de sódio não exerce influência nas alterações causadas na estrutura dentinária (Chng *et al.* 2002). Alguns estudos relacionados ao efeito clareador de agentes utilizados durante o clareamento dental interno tem comparado o efeito do peróxido de hidrogênio e da água destilada como veículos do perborato de sódio. Alguns estudos têm demonstrado melhores resultados quando uma solução de peróxido de hidrogênio é utilizada (Ho & Goerig, 1989; Warren *et al.*, 1990). Outros trabalhos têm demonstrado não haver diferença significativa quanto ao veículo utilizado (Rotstein *et al.*, 1993; Weiger *et al.*, 1994; Ari & Ungor, 2002). No presente estudo, a mistura de

perborato de sódio + peróxido de hidrogênio após 3 trocas da pasta clareadora, obteve resultados similares ao da mistura de perborato de sódio + água destilada.

Apesar do conhecido efeito da clorexidina em manchar dentes (Tilliss, 1999; Moran *et al.*, 2004), as amostras no presente estudo não apresentaram uma redução na eficácia clareadora quando este agente antimicrobiano foi adicionado. Aparentemente a propriedade escurecedora da clorexidina foi insignificante quando comparada à potência dos agentes clareadores. Ambos os grupos que utilizaram clorexidina (grupo 3 e 7) após a terceira semana de avaliação receberam os mesmos escores que os grupos com mesmo agente clareador sem clorexidina (grupo 1 e 6).

Alguns estudos têm demonstrado a importância da prevenção da microinfiltração coronária a fim de se evitar a recontaminação do tratamento endodôntico. Diversos fatores têm sido relacionados à ocorrência de microinfiltração coronária: a espessura do cimento obturador (Magura *et al.*, 1991), presença de falhas na massa obturadora (Magura *et al.*, 1991), solubilidade do cimento obturador (Saunders & Saunders, 1995), remoção de “smear layer”, forcas mastigatórias, e o efeito da saliva (Uranga *et al.*, 1999). Entretanto a literatura relacionada à microinfiltração durante o clareamento dental interno utilizando a técnica “walking bleach” é muito pobre.

A pasta de perborato de sódio depois de colocada na câmara pulpar será convertida em metaborato de sódio, oxigênio e água. Conseqüentemente esses componentes dificultam a secagem do canal diminuindo a capacidade seladora de cimentos e resinas (Hosoya *et al.*, 2000). Waite *et al.*, (1998) estudaram a capacidade de selamento coronário de um material restaurador provisório a base de óxido de zinco e eugenol (TERM[®]), na técnica do “walking bleach”, comparando as mistura de perborato de sódio/água e perborato de sódio/superoxol como agentes clareadores. Os autores encontraram que em apenas um dia já havia ocorrido a microinfiltração

coronária em ambos os grupos, sem diferença estatisticamente significativa.

Hosoya *et al.*, (2000) compararam a eficácia de cinco materiais utilizados no selamento coronário durante a técnica do “walking bleach” e encontraram que após uma semana, os materiais restauradores a base de sulfato de cálcio (Coltosol[®] e Cavit[®]) apresentaram menor microinfiltração quando comparados com materiais fotoativados e com materiais a base de óxido de zinco/eugenol e fosfato de zinco/eugenol. Os autores justificaram os resultados obtidos pela expansão dos materiais temporários a base de sulfato de cálcio durante a presa final devido à absorção de água. Os resultados obtidos por este estudo motivaram o uso do Coltosol em nosso trabalho tanto na confecção do tampão cervical quanto no selamento coronário.

A expansão do Coltosol foi recentemente criticada por Laustsen *et al.*, (2005) como causa de fraturas de cúspides e fraturas em dentes tratados endodonticamente. Neste trabalho os autores utilizaram Coltosol como cimento temporário em cavidades do tipo MOD. Em nosso estudo Coltosol foi usado como tampão cervical e como selamento do acesso palatino, para esta finalidade este cimento parece se comportar de maneira adequada.

Clinicamente, a confecção do tampão cervical deve ser realizada 2 mm abaixo da junção amelo-cementária devido à orientação dos túbulos dentinários que nesta região tem direção da região apical para a coronária. Tal procedimento pode ser realizado na mesma sessão do término do tratamento endodôntico.

Os canais radiculares não foram obturados e sim preenchidos com algodão nos 3 mm apicais da raiz, que serviu como suporte para a colocação do tampão cervical de Coltosol. Este procedimento foi fundamental para manter a raiz dental em contato com o BHI caldo. Uma vez que os microrganismos entrassem em contato com o algodão isto significaria clinicamente que estes teriam atingido a obturação do canal radicular. Os resultados deste estudo devem ser

analisados com cautela quando aplicados a condições clínicas. No presente estudo foram utilizados dentes bovinos, o que poderia facilitar a microinfiltração coronária devido a grande dimensão do acesso endodôntico e do tampão cervical. O grupo que utilizou peróxido de carbamida gel (grupo 6) obteve um melhor resultado quando comparado ao perborato de sódio associado à água ou peróxido de hidrogênio (grupo 1 e 2). Entretanto, quando a clorexidina foi associada ao perborato de sódio (grupo 3) a média do tempo requerido para a contaminação do canal radicular foi aumentada em 15.3 dias, resultado superior ao da clorexidina associada ao peróxido de carbamida gel (grupo 7), cujo tempo requerido para contaminação foi aumentado em média 8.25 dias.

Não há trabalhos na literatura avaliando a capacidade antimicrobiana dos agentes clareadores internos normalmente utilizados. No entanto, acreditava-se que sendo o peróxido de hidrogênio o produto final tanto do peróxido de carbamida quanto do perborato de sódio, ambos deviam possuir certo grau de atividade antimicrobiana. Mesmo assim, o amplo espectro de ação antimicrobiana da clorexidina gel 2% aliado a seu efeito antimicrobiano residual (Rölla & Melsen, 1975) nos motivaram a testar um provável aumento da atividade antimicrobiana destes agentes clareadores. As propriedades da clorexidina gel tais como seu amplo espectro microbiano, substantividade, baixa toxicidade e hidrossolubilidade têm aumentado o interesse do seu uso como agente auxiliar durante a instrumentação dos canais radiculares.

Alguns trabalhos têm estudado a capacidade antimicrobiana da clorexidina gel como agente auxiliar na instrumentação dos canais radiculares e como medicação intracanal (Ferraz *et al.*, 2001; Gomes *et al.*, 2001; Vianna 2002; Vianna *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2006) e durante a remoção do material obturador nos retratamentos endodônticos (Oliveira, 2002).

Devido a algumas limitações como a solubilidade e a capacidade de difusão da substância

testada na metodologia do estudo da atividade antimicrobiana pelo método de halo, optou-se em realizar o método do contato direto a fim de que uma metodologia complementasse as deficiências da outra. Em nosso estudo de efeito antimicrobiano, os grupos que utilizaram a clorexidina gel obtiveram os melhores resultados, tanto no teste do contato direto quanto na formação do halo de inibição. Tais resultados estão de acordo com trabalhos de Ferraz *et al.* 2001, Gomes *et al.* 2001 e Vianna *et al.* 2004.

Observou-se que nos grupos onde foi utilizada clorexidina gel (grupos 3, 5 e 7) houve um aumento significativo na capacidade antimicrobiana da associação quando comparados aos grupos que utilizaram os mesmos agentes clareadores sem a clorexidina gel (grupos 1, 4 e 6). Dentre os microrganismos utilizados observamos que o mais sensível aos agentes clareadores utilizados foi a *Candida albicans* seguido pelo *Streptococcus mutans*. Já o mais resistente foi o *Enterococcus faecalis*. Porém este microrganismo mostrou ser pouco resistente à ação da clorexidina, uma vez que nos grupos nos quais ela foi utilizada, houve uma grande diminuição no tempo necessário para formação de culturas negativas pelo teste do Contato Direto. Este efeito da clorexidina também pode ser observado no teste de Halo de Inibição. Tais resultados estão de acordo com trabalhos de Gomes *et al.*, (2001) e Vianna *et al.*, (2004).

7- CONCLUSOES

De acordo com os resultados obtidos e frente às metodologias aplicadas, é possível concluir que:

- 1- A capacidade clareadora dos agentes testados não foi reduzida pela adição de clorexidina gel 2%.
- 2- A adição de clorexidina gel 2% a agentes clareadores foi capaz de retardar a microinfiltração coronária.
- 3- A adição de clorexidina gel 2% a agentes clareadores foi capaz de aumentar a atividade antimicrobiana de todos os agentes testados.

REFERÊNCIAS *

Abbott PV. Aesthetic considerations in endodontics: internal bleaching. **Pract Periodontics Aesthet Dent**. 1996; 9(7):833-40.

Ari H, Ungor M. In vitro comparison of different types of sodium perborate used for intracoronal bleaching of discoloured teeth. **Int Endod J**. 2002; 35(5):433-6.

Attin T, Paque F, Ajam F, Lennon AM. Review of the current status of tooth whitening with the walking bleach technique. **Int Endod J**. 2003; 36(5):313-29.

Barkhordar RA, Kempler D, Plesh O. Effect of non-vital tooth bleaching on microleakage of resin composite restorations. **Quintessence Int**. 1997; 28(5):341-4.

Barthel CR, Strobach A, Briedigkeit H, Gobel UB, Roulet JF. Leakage in roots coronally sealed with different temporary fillings. **J Endod**. 1999; 25(11):731-4.

Beltes PG, Pissiotis E, Koulaouzidou E, Kortsaris AH. *In vitro* release of hydroxyl ions from six types of calcium hydroxide nonsetting pastes. **J Endod**. 1997; 23(7):413-5.

Benatti O, Abe A. Um método simplificado de branqueamento dentes anteriores. **Rev Bras Odontol**. 1971; 28(167):20-6.

Brown G. Factors influencing successful bleaching of the discolored root-filled tooth. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. 1965; 20(8):238-44.

Caughman WF, Frazier KB, Haywood VB. Carbamide peroxide whitening of nonvital single discolored teeth: case reports. **Quintessence Int**. 1999; 30(3):155-61.

Chng HK, Palamara JE, Messer HH. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on biomechanical properties of human dentin. **J Endod**. 2002; 28(2):62-7.

* De acordo com a norma UNICAMP / FOP, baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Cooper JS, Bokmeyer TJ, Bowles WH. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents. **J Endod.** 1992; 18(7):315-7.

Costas FL, Wong M. Intracoronal isolating barriers: effect of location on root canal leakage and effectiveness of bleaching agents. **J Endod.** 1991; 17(8):365-8.

Cvek M, Lindvall AM. External root resorption following bleaching of pulpless teeth with oxygen peroxide. **Endod Dent Traumatol.** 1985; 1(2):56-60.

Dahlstrom SW, Heithersay GS, Bridges TE. Hydroxyl radical activity in thermo-catalytically bleached root-filled teeth. **Endod Dent Traumatol.** 1997; 13(3):119-25.

Dametto FR, Ferraz CC, de Almeida Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ. *In vitro* assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2005; 99(6):768-72.

Fava LR, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. **Int Endod J.** 1999; 32(4):257-82.

Ferraz CC, Figueiredo de Almeida Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ. *In vitro* assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. **J Endod.** 2001; 27(7):452-5.

Frazier KB. Nightguard bleaching to lighten a restored, non-vital discolored tooth. **Compend Contin Educ Dent.** 1998; 19(8):810-3.

Freccia WF, Peters DD, Lorton L, Bernier WE. An *in vitro* comparison of nonvital bleaching techniques in the discolored tooth. **J Endod.** 1982; 8(2):70-7.

Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int Endod J**. 2001; 34(6):424-8.

Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. **Int Endod J**. 2003; 36(4):267-75.

Gomes BP, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. 2006; 102(4):544-50.

Grossman LI. **Root Canal Therapy**. Philadelphia: Lea & Febiger; 1940.

Gutierrez JH, Gusman M. Tooth discoloration in endodontic procedures. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. 1968; 26(5):706-10.

Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran JF. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, *in vitro*. **J Dent Res**. 1993; 72(5):931-8.

Harrington GW, Natkin E. External resorption associated with bleaching of pulpless teeth. **J Endod**. 1979; 5(11):344-8.

Hattab FN, Qudeimat MA, al-Rimawi HS. Dental discoloration: an overview. **J Esthet Dent**. 1999; 11(6):291-310.

Heling I, Parson A, Rotstein I. Effect of bleaching agents on dentin permeability to *Streptococcus faecalis*. **J Endod**. 1995; 21(11):540-2.

Ho S, Goerig AC. An *in vitro* comparison of different bleaching agents in the discolored

tooth. **J Endod.** 1989; 15(3):106-11.

Horn DJ, Hicks L, Bulan-Brady J. Effect of smear layer removal on bleaching of human teeth *in vitro*. **J Endod.** 1998; 24(12):791-5.

Hosoya N, Cox CF, Arai T, Nakamura J. The walking bleach procedure: an *in vitro* study to measure microleakage of five temporary sealing agents. **J Endod.** 2000; 26(12):716-8.

Ingle JI, Tainter JF. **Endodontics**. 3ed. Philadelphia: Lea & Fabiger; 1985.

Ingle JI. **Endodontics**. 2ed. Philadelphia: Lea & Fabiger; 1976.

Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. **J Endod.** 1994; 20(6):276-8.

Jenkins S, Addy M, Wade W. The mechanism of action of chlorhexidine. A study of plaque growth on enamel inserts *in vivo*. **J Clin Periodontol.** 1988; 15(7):415-24.

Kaneko J, Inoue S, Kawakami S, Sano H. Bleaching effect of sodium percarbonate on discolored pulpless teeth *in vitro*. **J Endod.** 2000; 26(1):25-8.

Kawamoto K, Tsujimoto Y. Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching. **J Endod.** 2004; 30(1):45-50.

Kenoe JC. pH reversal following *in vitro* bleaching of pulpless teeth. **J Endod.** 1987 13(1):6-9.

Kinomoto Y, Carnes DL, Ebisu S. Cytotoxicity of intracanal bleaching agents on periodontal ligament cells *in vitro*. **J Endod.** 2001; 27(9):574-7.

Koo H, Gomes BP, Rosalen PL, Ambrosano GM, Park YK, Cury JA. In vitro antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. **Arch Oral Biol.** 2000;

45(2):141-8.

Lado EA. Bleaching of endodontically treated teeth: an update on cervical resorption. **Gen Dent.** 1988; 36(6):500-1.

Laustsen MH, Munksgaard EC, Reit C, Bjorndal L. A temporary filling material may cause cusp deflection, infractions and fractures in endodontically treated teeth. **Int Endod J.** 2005; 38(9):653-7.

Lienberg WH. Intracoronal lightening of discolored pulpless teeth: a modified walking bleach technique. **Quintessence Int.** 1997; 28(12):771-7.

MacIsaac AM, Hoen MM. Intracoronal bleaching: concerns and considerations. **J Can Dent Assoc.** 1994; 60(1):57-64.

Magura ME, Kafrawy AH, Brown CE Jr, Newton CW. Human saliva coronal microleakage in obturated root canals: an in vitro study. **J Endod.** 1991; 17(7):324-31.

Miyamoto T, Takahashi S, Ito H, Inagaki H, Noishiki Y. Tissue biocompatibility of cellulose and its derivatives. **J Biomed Mater Res.** 1989; 23(1):125-33.

Moran J, Addy M, Courtney M, Smith S, Newcombe R. A clinical study to assess the ability of a powered toothbrush to remove chlorhexidine/tea dental stain. **J Clin Periodontol.** 2004; 31(2):95-8.

Nutting EB, Poe GS. A new combination for bleaching teeth. **J South Calif Dent.** 1963; 31(3):289-91.

Oliveira DP. **Avaliação “in vitro” da remoção de material obturador empregando diferentes técnicas durante o retratamento endodôntico.** Dissertação Mestrado. Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP; 2002.

Pashley DH, Livingston MJ. Effect of molecular size on permeability coefficients in human dentine. **Arch Oral Biol.** 1978; 23(5):391-5.

Perez F, Calas P, Falguerolles A, Maurette A. Migration of a *Streptococcus sanguis* strain through root dental tubules. **J Endod.** 1993; 19(6):297-301.

Prinz H. Recent improvements in tooth bleaching. A clinical syllabus. **Dent Cosmos.** 1942; 66(5):558-60.

Putter H, Jordan RE. The 'walking' bleach technique. **J Esthet Dent.** 1989; 1(6):191-3.

Robinson PB. Bleaching of non-vital teeth. **Apex.** 1972; 6(3):105-6

Rolla G, Melsen B. On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. **J Dent Res.** 1975; 54(6):57-62.

Rotstein I, Mor C, Friedman S. Prognosis of intracoronal bleaching with sodium perborate preparation in vitro: 1-year study. **J Endod.** 1993; 19(1):10-2.

Rotstein I, Torek Y, Lewinstein I. Effect of bleaching time and temperature on the radicular penetration of hydrogen peroxide. **Endod Dent Traumatol.** 1991c; 7(5):196-8

Rotstein I, Torek Y, Misgav R. Effect of cementum defects on radicular penetration of 30% H₂O₂ during intracoronal bleaching. **J Endod.** 1991b; 17(5):230-3.

Rotstein I, Zalkind M, Mor C, Tarabeah A, Friedman S. *In vitro* efficacy of sodium perborate preparations used for intracoronal bleaching of discolored non-vital teeth. **Endod Dent Traumatol.** 1991a; 7(4):177-80.

Rotstein I, Zyskind D, Lewinstein I, Bamberger N. Effect of different protective base materials on hydrogen peroxide leakage during intracoronal bleaching *in vitro*. **J Endod.**

1992; 18(3):114-7.

Rotstein I. Role of catalase in the elimination of residual hydrogen peroxide following tooth bleaching. **J Endod.** 1993; 19(11):567-9.

Salvas JC. Perborate as a bleaching agent. **J Am Dent Assoc Dent.** 1938; 25(2):324, 1938.

Saunders EM, Saunders WP. Long-term coronal leakage of JS Quickfill root fillings with Sealapex and Apexit sealers. **Endod Dent Traumatol.** 1995; 11(4):181-5.

Saunders WP, Saunders EM. Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. **Endod Dent Traumatol.** 1994; 10(3):105-8.

Siqueira JF Jr, de Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. **J Endod.** 1997; 23(3):167-169.

Siqueira JF Jr, Rocas IN, Lopes HP, de Uzeda M. Coronal leakage of two root canal sealers containing calcium hydroxide after exposure to human saliva. **J Endod.** 1999; 25(1):14-6.

Smith JJ, Cunningham CJ, Montgomery S. Cervical canal leakage after internal bleaching. **J Endod.** 1992; 18(10):476-81.

Spasser HF. A simple bleaching technique using sodium perborate. **NY State Dent J.** 1961; 27(7):332-4.

Stevens RH, Grossman LI. Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. **J Endod.** 1983; 9(9):372-4.

Stuart KG, Miller CH, Brown CE Jr, Newton CW. The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1991; 72(1):101-4.

Swift EJ Jr. Treatment of a discolored, endodontically treated tooth with home bleaching and composite resin. **Pract Periodontics Aesthet Dent.** 1992; 4(3):19-21.

Swift Jr E. (1999) Ask the experts. Self-cured composites and bleaching. **J Esthet Dent.** 1999; 11(3):122-3.

Teixeira EC, Hara AT, Serra MC. Use of 37% carbamide peroxide in the walking bleach technique: a case report. **Quintessence Int.** 2004; 35(2):97-102.

Teixeira EC, Hara AT, Turssi CP, Serra MC. Effect of non-vital tooth bleaching on microleakage of coronal access restorations. **J Oral Rehabil.** 2003; 30(11):1123-7.

Teixeira FB, Nogueira EC, Ferraz CC, Zaia AA. Clareamento dental interno com pasta de perborato de sódio e água destilada. **Rev APCD.** 2000; 54(4):315-18.

Tilliss TS. Use of a whitening dentifrice for control of chlorhexidine stain. **J Contemp Dent Pract.** 1999; 15(1):9-15.

Timpawat S, Nipattamanon C, Kijssamanmith K, Messer HH. Effect of bleaching agents on bonding to pulp chamber dentine. **Int Endod J.** 2005; 38(4):211-7.

Titley K, Torneck CD, Smith D. The effect of concentrated hydrogen peroxide solutions on the surface morphology of human tooth enamel. **J Endod.** 1988; 14(2):69-74.

Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Adibfar A. Adhesion of composite resin to bleached and unbleached bovine enamel. **J Dent Res.** 1988; 67(12):1523-8.

Torneck CD, Titley KC, Smith DC, Adibfar A. The influence of time of hydrogen peroxide exposure on the adhesion of composite resin to bleached bovine enamel. **J Endod.** 1990; 16(3):123-8.

Uranga A, Blum JY, Esber S, Parahy E, Prado C. A comparative study of four coronal

obturation materials in endodontic treatment. **J Endod.** 1999; 25(3):178-80.

van der Burgt TP, Plasschaert AJ. Bleaching of tooth discoloration caused by endodontic sealers. **J Endod.** 1986; 12(6):231-4.

Vianna ME. **Atividade antimicrobiana de alguns medicamentos utilizados como irrigantes e medicações intracanaís.** [dissertação]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2002.

Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2004; 97(1):79-84.

Vivacqua-Gomes N, Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Influence of irrigants on the coronal microleakage of laterally condensed gutta-percha root fillings. **Int Endod J.** 2002; 35(9):791-5.

Waite RM, Carnes DL Jr, Walker WA 3rd. Microleakage of TERM used with sodium perborate/water and sodium perborate/superoxol in the "walking bleach" technique. **J Endod.** 1998; 24(10):648-50

Walton RE & Rotstein I. Internal dental bleaching. Principles and practice in Endodontics. Philadelphia: WB Saunders, 1996.

Walton RE, O'Dell NL, Lake FT, Shimp RG. Internal bleaching of tetracycline-stained teeth in dogs. **J Endod.** 1983; 9(10):416-20.

Warren MA, Wong M, Ingram TA III. An *in vitro* comparison of bleaching agents on the crowns and roots of discolored teeth. **J Endod.** 1990; 16(10): 463-7.

Weiger R, Kuhn A, Lost C. Radicular penetration of hydrogen peroxide during intra-coronal bleaching with various forms of sodium perborate. **Int Endod J.** 1994; 27(6): 313-7.

Weinstein AR. Esthetic applications of restorative materials and techniques in the anterior dentition. **Dent Clin North Am.** 1993; 37(3):391-409.

Weisman MI. Efficient bleaching procedure for the pulpless tooth. **Dent Digest.** 1963; 69(6), 347-52.

ANEXOS

In Vitro Assessment of a Gel Base Containing 2% Chlorhexidine as a Sodium Perborate's Vehicle for Intracoronaral Bleaching of Discolored Teeth.

Daniel Pinto de Oliveira, Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, Alexandre Augusto Zaia, Francisco José de Souza-Filho, Caio CezarRandi Ferraz.

Journal of Endodontics. 2006; 32(7): 672-674.