

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE SOLUÇÕES IRRIGADORAS NO PREPARO BIOMECÂNICO DE CANAIS RADICULARES FRENTE A *Enterococcus faecalis*

ANTIMICROBIAL ACTIVITY IRRIGATING SOLUTIONS TO PREPARE CHANNELS BIOMECHANICAL ROOT FACE TO *Enterococcus faecalis*

FAGNER DA SILVA¹, NEILA LILYANE DA SILVA GOMES FRANCISCO², SILENO CORREA BRUM³, CARLA CRISTINA NEVES BARBOSA⁴, LIDIANE DE CASTRO SOARES^{5*}

1. Acadêmico do curso de Graduação em Odontologia da Universidade Severino Sombra; 2. Bióloga/Técnica do Laboratório da Universidade Severino Sombra; 3. Cirurgião-Dentista, Doutor pela Universidade Federal Fluminense, Docente do Curso de Graduação em Odontologia da Universidade Severino Sombra; 4. Cirurgiã-Dentista, Mestre pela Faculdade CPO São Leopoldo Mandic, Docente do Curso de Graduação em Odontologia da Universidade Severino Sombra; 5. Bióloga, Doutora pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Docente do Curso de Graduação em Odontologia da Universidade Severino Sombra;

* Avenida Expedicionário Oswaldo Almeida Ramos 280, Vassouras, Rio de Janeiro, Brasil. CEP. 27700-000. lidianecastrosoares@gmail.com

Recebido em 20/03/2016. Aceito para publicação em 09/05/2016

RESUMO

A terapia endodôntica tem como uma de suas principais finalidades a modelagem, limpeza e desinfecção do canal radicular, sendo realizada através da remoção do tecido pulpar, restos necróticos e microrganismos presentes. As bactérias e seus produtos metabólicos são considerados os responsáveis por doenças pulpares e periapicais. A utilização de soluções irrigantes com os instrumentos endodônticos é fundamental para a eliminação bacteriana. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana das soluções irrigantes e diferentes medicações intracanal frente a *Enterococcus faecalis*. Para avaliação da atividade antimicrobiana das substâncias irrigadoras foi utilizado o teste de disco-difusão, através da perfuração de poços em ágar. Todas as soluções irrigadoras apresentaram atividade antimicrobiana. O hipoclorito de sódio a 2,5% foi a solução que apresentou melhor atividade antimicrobiana, com média de 35,9 mm de halo de sensibilidade, seguido da clorexidina a 2% (30,4mm). A própolis foi a solução irrigadora que apresentou menor halo de inibição, com média de 9,3 mm. O hipoclorito de sódio é a solução irrigadora de escolha na Endodontia devido principalmente sua atividade antimicrobiana e capacidade de dissolver material orgânico.

PALAVRAS-CHAVE: Atividade antimicrobiana, endodontia, *Enterococcus faecalis*, solução irrigadora.

ABSTRACT

The endodontic therapy has as one of its main purposes shaping, cleaning and disinfecting root canal, being carried out by removing the pulp tissue, necrotic debris and microorganisms. Bacteria and their metabolic products are considered responsible for pulp and periapical diseases. The use of irrigating solu-

tions with endodontic instruments are essential for bacterial clearance. Thus, this study aims to evaluate the antimicrobial activity of irrigation and different solutions intracanal medications against *Enterococcus faecalis*. To evaluate the antimicrobial activity of irrigating substances we used the disk diffusion test, by drilling wells in agar. All irrigating solutions presented antimicrobial activity. Sodium hypochlorite 2.5% was the solution that had the best antimicrobial activity, averaging 35.9 mm sensitivity halo, followed by 2% chlorhexidine (30.4mm). Propolis was the irrigating solution which showed lower inhibition zone, with an average of 9.3 mm. Sodium hypochlorite is the irrigant of choice in Endodontics mainly due to its antimicrobial activity and ability to dissolve organic material.

KEYWORDS: Antimicrobial activity, endodontics, *enterococcus faecalis*, irrigating solution.

1. INTRODUÇÃO

As bactérias e seus metabólitos são considerados agentes etiológicos primários da mortificação pulpar e da lesão periapical, sendo a eliminação destes microrganismos um dos passos mais importantes na terapia endodôntica¹.

O preparo químico-mecânico no sistema de canais radiculares ocupa um papel importante na terapia endodôntica, pois é por meio dele que se consegue a limpeza, a desinfecção e a modelagem do canal, preparando para receber, mais tarde, a obturação tridimensional². Diversos estudos têm sido realizados na procura por irrigantes que reúnam melhores propriedades, incluindo atividade antimicrobiana, baixa toxicidade para os tecidos periapicais, solubilidade e capacidade de dissolver matéria orgânica^{2,3,4}. Além disso, o sucesso do tratamen-

to endodôntico também está associado à eliminação de detritos de origem orgânica do sistema de canais radiculares anterior à obturação³.

A escolha de uma solução irrigadora não é aleatória. É importante que o profissional tenha conhecimento das propriedades químicas das soluções irrigantes para selecioná-la e utilizá-la da melhor maneira possível, em cada caso em particular. As soluções irrigadoras devem apresentar baixa tensão superficial, viscosidade, ter capacidade de dissolver material orgânico, atividade antimicrobiana, atividade lubrificante e quelante, suspensão de detritos e biocompatibilidade⁵.

A solução de hipoclorito de sódio tem sido a substância química mais utilizada no preparo de canais radiculares por mais de cinco décadas. Vários efeitos são atribuídos a ela, tais como ação solvente de matéria orgânica, lubrificante, clareador, desodorizante e atividade antimicrobiana⁶. Disponíveis concentrações do hipoclorito de sódio como 0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 6% estão disponíveis para o tratamento endodôntico^{3,5}. No entanto, a solução de hipoclorito de sódio quando em concentrações acima de 2,5%, pode ocasionar danos ao tecido pulpar periapical, prejudicando o processo de reparo apical. Em virtude do poder citotóxico do hipoclorito de sódio, recomenda-se o emprego de soluções menos concentradas, as quais devem manter uma atividade antimicrobiana satisfatória^{6,7}.

Além disso, as soluções de hipoclorito de sódio independente de sua concentração são muito instáveis, fazendo com que percam seu teor de cloro ativo. Isto se deve pela reação química constante do produto, e que pode ser influenciada e acelerada de acordo com alguns fatores locais tais como temperatura, armazenamento, luminosidade, pH entre outros⁸.

O hipoclorito de sódio apresenta atividade antibacteriana, no entanto o exato mecanismo de ação não está devidamente elucidado. Acredita-se que o hipoclorito de sódio associado à água forma o ácido hipocloroso, que contém cloro ativo, um forte agente oxidante. Desta forma, ocorre oxidação irreversível de enzimas essenciais à célula bacteriana.

A clorexidina é reconhecida pela sua ampla atividade antimicrobiana, amplo espectro de ação e sua baixa citotoxicidade, sendo sua utilização proposta para a irrigação de canais radiculares durante o tratamento endodôntico. A clorexidina tem se mostrado um excelente agente antimicrobiano, sendo usado desde 1950 em diferentes concentrações como antisséptico oral, gel e pasta de dente, além de seu grande uso nas áreas médicas e odontológicas. Seu grande espectro contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sua capacidade em aderir ao tecido dentinário e à mucosa bucal por tempo prolongado, assim como sua biocompatibilidade, são algumas propriedades clínicas que justificam a sua utilização^{1,7}.

Como irrigante endodôntico, a clorexidina vem mostrando ótimos resultados na última década, sendo absorvida pela parede celular dos micro-organismos e causando quebra dos componentes intracelulares. Em baixas concentrações tem efeito bacteriostático e em altas tem efeito bactericida, devido à precipitação e coagulação do citoplasma, provavelmente causado pela união de proteínas^{1,6}.

O interesse pela ação farmacológica de produtos naturais tem crescido e encontrado significativa aceitação popular. Dentre esses produtos, a própolis tem se destacado devido à sua aplicabilidade na indústria de alimentos e cosméticos, por ser utilizada como princípio ativo em vários produtos, dentre os quais os dentífrícios e os cremes para pele^{9,10}.

A própolis tem sido apontada como uma alternativa terapêutica do ponto de vista econômico e eficácia farmacológica devido sua fácil obtenção e por possuir inúmeras propriedades farmacêuticas, como a ação antimicrobiana frente a vários agentes etiológicos, sobretudo bactérias cariogênicas e alguns patógenos do periodonto^{4,9,11}. Associado a isso, a própolis também tem sido muito estudada por apresentar atividade analgésica, anti-inflamatória e antimicrobiana^{4,9}. Por outro lado, existem poucos dados sobre a sensibilidade do *Enterococcus faecalis* frente a este agente.

A atividade antimicrobiana da própolis é atribuída principalmente à flavonona pinocembrina, ao flavonol galagina e ao éster feniltil do ácido caféico, com um mecanismo de ação baseado provavelmente na inibição do RNA-polimerase bacteriano¹². Outros componentes como os flavonoides, o ácido caféico, ácido benzoico, ácido cinâmico, provavelmente agem na membrana ou parede celular do microrganismo, causando danos funcionais e estruturais¹². Apresenta melhor atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram-positivas e ação limitada contra Gram-negativas^{10,13,14}. No entanto, até o momento não há relatos contundentes que justifiquem essa diferença de atividade. Acredita-se que este fato esteja relacionado com a diferença da constituição da parede celular bacteriana, uma vez que bactérias Gram-negativas apresentam alto teor de lipídeos.

As propriedades da própolis estão diretamente relacionadas à sua composição química, o que representa o principal desafio para o seu uso em fitoterapia, uma vez que sua composição varia de acordo com a vegetação da região, época da coleta e técnica empregada, bem como em função da espécie da abelha e do grau de africanização da *Apis mellifera* no Brasil, fatores importantes na definição das suas propriedades físicas, químicas e biológicas¹⁵.

Na Endodontia existe a possibilidade do preparo de várias misturas e associações para o preparo biomecânico de canais radiculares. Neste contexto, destaca-se a água de cal, uma solução saturada de hidróxido de cálcio

p.a. em água fervida ou resfriada, soro fisiológico ou água destilada (cerca de 0,14g de hidróxido de cálcio em 100 mL de água). É límpida e apresenta o pH 11. A solução aquosa de hidróxido de cálcio apresenta uma alta tensão superficial de 66,82 dinas, ausência de atividade solvente de tecido pulpar e atividade antibacteriana extremamente baixa. É recomendada nos casos de hemorragia pulpar, como substância hemostática, que atua por vasoconstricção, eliminando, assim, a possibilidade de hemorragia tardia. Com o objetivo de reduzir as propriedades negativas da solução aquosa de hidróxido de cálcio, foi realizada a associação hidróxido de cálcio + detergente aniônico (laurildietilenoglicol éter sulfato de sódio). Esta associação apresenta pH alcalino e baixa tensão superficial, favorecendo a ação do hidróxido de cálcio para entrar em contato com as paredes dos canais radiculares¹⁶.

O hidróxido de cálcio tem sido utilizado desde 1920 em dentes com necrose pulpar e lesões periapicais devido sua atividade antimicrobiana, principalmente contra anaeróbios Gram negativos, ação anti-inflamatória, capacidade de dissolução tecidual, inibidor da reabsorção radicular, indução da formação de tecido duro. Porém, estudos têm mostrado que o *Enterococcus faecalis* é relativamente resistente ao hidróxido de cálcio^{7,17}.

A atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio ocorre pela liberação de íons hidroxila originadas de sua dissociação, o qual atinge níveis que tornam o meio incompatível à sobrevivência destas¹⁸.

O ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) possui ação quelante permitindo a formação de uma solução auxiliar para a instrumentação dos canais radiculares atresiadados. No entanto, o EDTA não possui atividade bactericida ou bacteriostática significativa. Os quelantes devido à sua propriedade de limpeza, podem destacar o biofilme bacteriano que fica aderido às paredes dos canais radiculares⁵.

O EDTA não age imediatamente quando colocado em contato com a dentina e, portanto, há necessidade de se esperar de dez a quinze minutos para sentir o efeito de sua ação. À medida que entra em contato com a dentina, remove íons cálcio, sofre neutralização e perde sua ação, fazendo-se, necessária a sua renovação constante². O EDTA está indicado como coadjuvante do preparo biomecânico, por ser um quelante específico para os íons cálcio, em canais atresiadados e calcificados, para remoção do magma dentinário superficial e combinado com o NaOCl durante o preparo biomecânico de canais radiculares infectados^{5,19}.

Levando-se em conta que diferentes medicações são utilizadas como irrigadores no tratamento intracanal torna-se pertinente a realização de uma análise da atividade antimicrobiana de diferentes soluções irrigadoras frente a *Enterococcus faecalis*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Universidade Severino Sombra, Vassouras, RJ, Brasil. Foram testadas diferentes substâncias irrigadoras frente a cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). As substâncias irrigadoras utilizadas foram: 1) hipoclorito de sódio a 2,5% (Asfer®); 2) clorexidina a 2% (FGM®); 3) EDTA (AAF®); 4) extrato aquoso de própolis; 5) hidróxido de cálcio P.A.; 6) água destilada estéril (controle negativo).

Para avaliação da atividade antimicrobiana das substâncias irrigadoras foi utilizado o teste de disco-difusão, através da perfuração de poços em ágar.

A concentração bacteriana utilizada foi padronizada por intermédio da turbidez do meio, de acordo com a escala 0,5 de McFarland, a qual corresponde a uma concentração bacteriana de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ céls/mL. Uma suspensão bacteriana de *Enterococcus faecalis* (0,1 mL) foi distribuída por toda a superfície das placas contendo ágar Müeller Hinton (Difco®) com o auxílio da alça de Drigalski. A formação dos poços foi realizada pela perfuração da extremidade circunferencial da ponteira de 200µl no meio de cultura e 40µl de cada solução foi adicionado em cada poço perfurado em placa 90x15mm. Após incubação por 24-48 horas a 37°C, os diâmetros formados na zona de inibição ao redor do depósito dos fármacos, foram observados e medidos, em milímetros²⁰. Para cada solução irrigadora foram realizadas 10 repetições e as médias aritméticas de cada solução foram calculadas e analisadas estatisticamente pelo teste de ANOVA.

O grupo controle consistiu em placas de ágar sangue inoculadas com a espécie bacteriana testada e contendo discos de papel secos, sem soluções irrigadoras. O procedimento foi realizado assepticamente, empregando-se apenas instrumental estéril.

3. RESULTADOS

Todas as soluções irrigadoras apresentaram atividade antimicrobiana. No entanto, foi possível observar diferenças nas médias aritméticas dos halos de inibição avaliados (Tabela 1). Não foi detectada diferença estatística significativa entre as médias de inibição do hipoclorito de sódio 2,5%, clorexidina 2%, hidróxido de cálcio e EDTA.

Tabela 1. Média dos halos de inibição das soluções irrigadoras frente a *Enterococcus faecalis*.

Bactéria	Média do tamanho do halo de inibição (mm)					
	Hipoclorito de sódio 2,5%	Clorexidina 2%	Hidróxido de Cálcio	EDTA	Própolis	Água Destilada
<i>Enterococcus faecalis</i>	35,9	30,4	26,3	23,7	9,3	0

O hipoclorito de sódio a 2,5% foi a solução irrigadora que apresentou melhor atividade antimicrobiana, com média de 35,9 mm de halo de sensibilidade, seguido da clorexidina a 2% (30,4mm). A própolis foi a solução irrigadora que apresentou menor halo de inibição, com média de 9,3 mm. Não foi detectada atividade antimicrobiana na água destilada, usada como controle negativo.

4. DISCUSSÃO

Várias substâncias têm sido empregadas com objetivo de irrigação do sistema de canais radiculares, como hipoclorito de sódio (NaOCl), clorexidina, EDTA a 17%, ácido cítrico, e solução de ácido fosfórico a 37%. Das soluções irrigantes, a mais utilizada é a de hipoclorito de sódio, em diferentes concentrações, por possuir triplo modo de ação: habilidade de dissolução de tecido necrótico, atribuída à sua alta alcalinidade; propriedade bactericida relacionada com a formação do ácido hipocloroso pela liberação de cloro da solução; e saponificação de gorduras²¹.

De acordo com dados da literatura, a clorexidina tem demonstrado melhor ação frente a *Enterococcus faecalis* que o hidróxido de cálcio, fato também observado no presente trabalho^{4,22}. Estes resultados corroboram com Ferraz²³ que ao avaliarem a atividade antimicrobiana da clorexidina 2% em duas formas de apresentação (gel e líquida) detectaram sensibilidade frente a microrganismos. Segundo Pretel¹ a clorexidina a 2% apresenta-se como uma solução irrigadora viável devido a suas características específicas de substantividade e seu alto efeito antibacteriano e parece ser mais eficaz por sua penetração e substantividade dentro dos túbulos dentinários.

A própolis, apesar de ser uma substância promissora devido sua atividade antimicrobiana sem efeito tóxico, foi a solução que apresentou menor halo de inibição. No trabalho desenvolvido por Silva²⁴ foi avaliada a atividade antimicrobiana da própolis aquosa, própolis alcoólica, hipoclorito de sódio e da solução fisiológica. A solução de própolis aquosa e solução fisiológica não apresentaram atividade antimicrobiana. No entanto, em outros estudos tem sido demonstrado a eficácia da própolis alcoólica frente a *Enterococcus*, *Prevotella* e *Actinomyces* sugerindo inclusive a sua utilização como medicação intracanal alternativa²⁵. No trabalho desenvolvido por Gondim²⁶ foi relatado baixa eficácia da própolis aquosa quando comparada a própolis alcoólica. Estes resultados podem estar associados ao fato do extrato aquoso de própolis não possuir álcool, visto que este apresenta atividade antimicrobiana por agir diretamente na membrana plasmática e interferir na ação das proteínas.

A literatura aponta para o fato das propriedades biológicas da própolis estarem diretamente relacionadas à

sua composição química que varia com o tipo de vegetação da região, a época da coleta, a técnica empregada, a espécie da abelha e o grau de africanização da *Apis mellifera* no Brasil. Sendo assim, novos estudos são necessários a fim de se avaliar os diferentes tipos de própolis existentes no Brasil, uma vez que, segundo Park²⁷, já foram identificadas e classificadas 12 tipos de própolis.

O hidróxido de cálcio apresentou halo de inibição de 26,3 mm frente a *E. faecalis*. Resultados semelhantes foram demonstrados por Maia Filho⁴ *et al.* que ao avaliar o hidróxido de cálcio detectou atividade antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis*.

No entanto, de acordo com a literatura, a utilização do hidróxido de cálcio pode apresentar algumas limitações, como baixa solubilidade e difusibilidade que dificultam a chegada dessa substância aos locais de difícil acesso em dentes que apresentam variações anatômicas, como istmos, deltas apicais, reentrâncias, locais estes onde as bactérias se encontram protegidas da ação das medicações intracanaís.

Estudos apontam que *Enterococcus faecalis* tem apresentado resistência ao hidróxido de cálcio. Devido este fato, a adição de veículos com propriedade antimicrobiana ao hidróxido de cálcio tem sido avaliada²⁸. Alguns autores sugerem a associação do hidróxido de cálcio com a clorexidina, uma vez que esta potencializa sua capacidade de penetração nos túbulos dentinários^{28,29}. No entanto, no presente trabalho as medicações foram avaliadas separadas uma das outras.

De acordo com Pretel¹, o hipoclorito de sódio é a substância mais utilizada na desinfecção do sistema de canais radiculares. No entanto, Silva³⁰ ao avaliarem a atividade antimicrobiana de diferentes soluções irrigadoras como hipoclorito de sódio (0,5%, 1% e 2,5%), clorexidina (0,12% e 2%) e EDTA frente diferentes bactérias como *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, relataram que O EDTA não apresentou atividade antimicrobiana frente a nenhuma dos microrganismos avaliados, ao passo que o hipoclorito de sódio (1% e 2,5%) e clorexidina inibiram o crescimento bacteriano.

Tomazinho⁶ também avaliaram a atividade antimicrobiana das soluções irrigadoras frente a *Enterococcus faecalis*. O EDTA 17%, hipoclorito de sódio 0,5% e água oxigenada não foram capazes de inibir o crescimento bacteriano, enquanto que a clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 5% apresentaram halos de inibição de crescimento.

5. CONCLUSÃO

O hipoclorito de sódio 2,5% e clorexidina 2% foram as soluções irrigadoras que apresentaram maiores halos de inibição frente a *Enterococcus faecalis*. O hipoclorito de sódio continua sendo a solução irrigadora de escolha

na Endodontia devido sua atividade antimicrobiana e capacidade de dissolver material orgânico, seguida da clorexidina, devido suas características específicas de substantividade e seu alto efeito antibacteriano.

REFERÊNCIAS

- [1] Pretel H, Bezzon F, Faleiros FBC, Dametto FR, Vaz LG. Comparação entre soluções irrigadoras na endodontia: clorexidina x hipoclorito de sódio. RGO: Rev Gaúch Odontol. 2011;59(supl. 0):127-32.
- [2] Esteves DLS, Froes JAV. Soluções Irrigadoras em Endodontia-Revisão de Literatura. Arquivo Brasileiro de Odontologia 2013;9(2):48.
- [3] Fabro RMN, Britto MLB, Nabeshima CK. Comparação de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e soro fisiológico utilizados como soluções irrigadoras. Odontol Clín – Cient. 2010; 9(4): 365-8.
- [4] Maia Filho EM, M CCR, Bastos ACSC, Novais TMG. Efeito antimicrobiano in vitro de diferentes medicações endodônticas e própolis sobre *Enterococcus faecalis*. RGO 2008; 56(1):21-25.
- [5] Câmara AC, Muniz MA, Menezes CA. Soluções Irrigadoras Utilizadas para o Preparo Biomecânico de Canais Radiculares Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada, Universidade Federal da Paraíba Paraíba 2010; 10(1):127-133.
- [6] Tomazinho LF, Silva DCC, Fagundes FS, Tomazinho PH. Estudo in vitro da atividade antimicrobiana de soluções irrigadoras na eliminação de *Enterococcus faecalis*. Rev Sul-Bras Odontol 2007; 4(1):12-6.
- [7] Bonan RF, Batista AUD, Hussne RP. Comparison of The Use of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine as an Irrigant Solution in Endodontic Treatment: a Review of Literature. Revista Brasileira de Ciências da Saúde 2011;15(2):237-244.
- [8] Borin G, Melo TAF, Oliveira EPM. Análise da estabilidade química da solução de hipoclorito de sódio a 1% levando -se em consideração o local de armazenamento e a quantidade de solução presente no frasco. Rev Sul-Bras Odontol 2008; 4(3):7-12.
- [9] Longhini R, Raksa SM, Oliveira ACP, Svidzinski TIE, Franco SL. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. Revista Brasileira de Farmacognosia. João Pessoa, 2007; 3(1):388-95.
- [10] Packer JF, Luz MMS. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. Rev Bras Farmacogn 2007 17(1):102-107.
- [11] Paulino N, Teixeira C, Martins R, Scremin A, Dirsch VM, Vollmar AM, et al. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of a Brazilian green propolis. Planta Med. 2006; 72(10):899-906.
- [12] Uzel A, Sorkun K, Öncag Ö, Çogulo D, Gençay Ö, Salih B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. Microbiol Res 2005;160(2):189-195.
- [13] Scazzocchio F, D'Auria FD, Alessandrini D, Pantanella F. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. Microbiol Res 2005; 161(4):327-333.
- [14] Lustosa SR, Galindo AB, Nunes LC, Randau KP, Neto PJR. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. Rev. bras. Farmacogn; 2008; 18 (3):447-454.
- [15] Pereira AS, Seixas FRMS, Aquino Neto FR. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. Quim Nova 2002; 25(2):321-326.
- [16] Pécora JD, Souza-Neto MD, Estrela C. Soluções auxiliares do preparo do canal radicular. In: Estrela C, Figueiredo JAP. Endodontia: princípios biológicos e mecânicos. São Paulo: Artes Médicas; 2001. 553-69.
- [17] Lui JN, Kuab HG, Chen NN. Effect of EDTA with and without surfactants or ultrasonics on removal of smear layer. J Endod 2007; 33(4):472-5.
- [18] Rosato, JR. Revisão de literatura: pastas à base de hidróxido de cálcio usadas como medicação intracanal Universidade Estadual de Campinas [Dissertação]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba; 2010.
- [19] El Karim I, Kennedy J, Hussey D. The antimicrobial effects of root canal irrigati on and medicati on. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007; 103(4):560-9.
- [20] Silveira LMS, Olea RSG, Mesquita JS, Cruz ALN, Mendes JC. Metodologias de atividade antibacteriana aplicada a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. Revista Brasileira de Farmácia 2009; 90(2):124-128.
- [21] Marion JJC, Nagata JY, Senko RAG, Lima TFR, Soares AJ. Proposta terapêutica para dentes avulsionados utilizando hidróxido de cálcio associado a clorexidina gel 2% e óxido de zinco. Dental Press Endod. 2012;2(3):48-53.
- [22] Ercan E, Dalli M, Dülgergil CT. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006; 102(2):27-31.
- [23] Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. Braz. Dent. J. 2007 18(4):294-298.
- [24] Silva LA, Leonardo MR, Assed S, Tanomaro Filho M. Histological study of the effect of some irrigating solutions on bacterial endotoxin in dogs. Braz Dent J. 2004; 15(2):109-114.
- [25] Oncag O, Cogulu D, Uzel A, Sorkun K. Efficacy of propolis as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*. Gen Dent 2006;54(5):319-22.
- [26] Gondim BLC, Vieira TI, Cunha DA, Santiago BM. Atividade Antimicrobiana de Produtos Naturais Frente a Bactérias. Pesq Bras Odontoped Clin Integr 2011; 11(1): 123-127.
- [27] Park YK, Ikegaki M, Alencar SM, Moura FF. Evaluation of Brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. Honeybee Science 2000; 21(2):85-90.
- [28] Signoretti FGC. Avaliação in vitro da influencia da clorexidina 2% gel no pH, liberação de cálcio e ação sobre as endotoxinas do hidróxido de cálcio. [Dissertação]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP- 2009.
- [29] Souza-Filho FJ, Soares AJ, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CCR, Gomes BPFA. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. Braz Dent J 2008; 19(1): 28-33.
- [30] Silva LA, Leonardo MR, Assed S, Tanomaro Filho M. Histological study of the effect of some irrigating solutions on bacterial endotoxin in dogs. Braz Dent J. 2004; 15(2):109-114.