

DETERMINAÇÃO DOS MICROORGANISMOS NO CANAL RADICULAR, ANTES DO PREPARO BIOMECÂNICO E APÓS A UTILIZAÇÃO DA MEDICAÇÃO INTRACANAL, EM DENTES COM NECROSE PULPAR E REAÇÃO PERIAPICAL CRÔNICA

DETERMINATION OF THE MICROORGANISMS IN THE
ROOT CANAL BEFORE BIOMECHANICAL PREPARATION
AND AFTER USING INTRACANAL MEDICATION IN TEETH
WITH PULPAL NECROSIS AND CHRONIC PERIAPICAL
REACTION

Ana Helena Alencar¹
Fabiana Cristina Pimenta²
Izabel Yoko Ito³
Kely Firmino Bruno⁴
Mário Roberto Leonardo⁵

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar, em dentes humanos com necrose pulpar e reação periapical crônica, microrganismos no canal radicular antes do preparo biomecânico e após a utilização da medicação intracanal. Foram selecionados 45 dentes anteriores superiores com necrose pulpar e reação periapical crônica visível radiograficamente. Antes do preparo biomecânico foi realizada a primeira coleta do material para detecção e contagem microbiana. Após o preparo, os canais radiculares receberam a medicação intracanal de Calen+paramonoclorofenol canforado. Decorridos os períodos de tempo de 7, 14 e 30 dias, a medicação intracanal foi removida e os canais radiculares permaneceram selados vazios por sete dias, quando então, foi realizada a segunda coleta microbiológica e obturação biomecânica, cultura positiva para anaeróbios facultativos e 35 para estreptococos. Após o preparo biomecânico e medicação intracanal por 7, 14 e 30 dias, houve uma redução no número de microrganismos anaeróbios de 97,8%, 98,5% e 99,7% e de estreptococos de 98,8%, 99,5% e 99,5% respectivamente. Conclui-se que os dentes com necrose pulpar e reação periapical crônica apresentaram elevado número de microrganismos, predominantemente anaeróbios, e que com a utilização da associação Calen+paramonoclorofenol canforado houve uma redução de no mínimo 97,0% da microbiota do canal radicular.

Palavras-chave: Hidróxido de cálcio; microrganismos; necrose pulpar.

1 Professora Doutora da Disciplina de Endodontia da F.O./Universidade Federal de Goiás.

2 Professora Assistente da Disciplina de Microbiologia do IPTESP/Universidade Federal de Goiás.

3 Professora Titular da Disciplina de Microbiologia da F.O. Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo

4 Mestranda em Reabilitação Oral pela F.O./Universidade Federal de Uberlândia*

5 Professor Titular da Disciplina de Endodontia da F.O. Araraquara/Universidade Estadual Paulista.

Durante o tratamento de canais radiculares em dentes com necrose pulpar e com reação periapical crônica é indicada a utilização de um agente antimicrobiano, aplicado topicamente entre sessões, denominado curativo de demora⁶.

Um dos objetivos da medicação tópica entre sessões é eliminar microrganismos que tenham sobrevivido ao preparo biomecânico por estarem alojados em áreas de difícil acesso aos instrumentos ou solução irrigadora, como ramificações laterais, canalículos dentinários, deltas e nichos das crateras resultantes da erosão apical e mesmo aqueles protegidos pelo biofilme apical⁶. Resultados de trabalhos^{4,5} demonstraram que o preparo biomecânico e a irrigação com soluções germicidas reduzem significativamente o número de microrganismos; no entanto, esses mesmos trabalhos mostraram que bactérias podem permanecer nos canais radiculares, multiplicar e aumentar em número no período de tempo entre sessões, caso nenhum curativo antibacteriano seja aplicado.

Investigações sobre fracassos de tratamentos endodônticos revelaram que a presença ou a ausência de bactérias no momento da obturação é a razão da diferença entre a taxa de sucesso e a de insucesso após tratamento endodôntico em dentes com necrose pulpar e reação periapical crônica¹⁶. Esses achados enfatizam a importância da completa eliminação das bactérias do canal radicular antes da obturação. Esse objetivo não pode ser alcançado com tratamentos em uma única sessão por que não é possível eliminar toda a infecção do sistema de canais radiculares sem a aplicação de um curativo de demora antibacteriano entre sessões⁵.

Várias pesquisas têm mostrado que a manutenção do curativo de demora no canal radicular por um período aproximado de sete dias produz resultados satisfatórios⁶. Ainda assim, estudos têm sido realizados objetivando determinar o período necessário para que o curativo de demora promova a sanificação total do sistema de canais radiculares: Sjögren et al.¹⁷ consideraram eficaz o uso do hidróxido de cálcio como medicação intracanal por sete dias; Nerwich et al.¹⁰ demonstraram que o pico máximo de pH do hidróxido de cálcio na superfície externa radicular, era alcançado após duas a três semanas; Silveira¹⁴ obteve os melhores resultados histológicos e microbiológicos após 30 dias de curativo de Calen + paramonoclorofenol canforado. Julga-se portanto necessário, investigar a variável tempo, que pode estar colaborando para que o índice de

sucesso de 100,0% não seja alcançado nos casos de dentes com necrose pulpar e reação periapical crônica.

Segundo Leonardo et al.⁸, o uso da pasta Calen associada ao paramonoclorofenol ou paramonoclorofenol canforado estaria justificado em casos de dentes com reações periapicais crônicas em razão da potencialização da atividade bacteriana da pasta, que viria a atingir tanto microrganismos aeróbios quanto anaeróbios, pela liberação controlada e progressiva de íons hidroxila, pela diminuição da solubilidade, pelo maior tempo de contato com a massa dentária, pela ação higroscópica sobre exsudato periapical e, finalmente, pela formação do paraclorofenolato de cálcio, sal formado pela combinação da pasta, o qual tornaria mais prolongado o tempo de ação da mesma. Resultados de trabalho *in vivo* de Alencar¹ confirmaram que o paramonoclorofenol permanece no canal radicular por um período de, pelo menos, 14 dias quando associado a pasta Calen.

A partir da revisão da literatura, pôde-se constatar que alguns questionamentos podem, ainda, ser levantados: Todos os canais radiculares de dentes humanos com polpa necrosada e reação periapical crônica apresentam contaminação bacteriana? O curativo de demora de Calen + paramonoclorofenol canforado elimina totalmente os microrganismos do sistema de canais radiculares de dentes humanos com necrose pulpar e reação periapical crônica? Por quanto tempo essa medicação deve permanecer no interior do canal radicular para promover uma melhor sanificação, por 7, 14 ou 30 dias? Assim, o presente estudo tem como objetivo determinar, em dentes humanos com necrose pulpar e reação periapical crônica, a presença de microrganismos no canal radicular antes do preparo biomecânico e após a utilização da medicação intracanal Calen (hidróxido de cálcio) + paramonoclorofenol canforado, quando utilizada em três diferentes períodos de tempo (7, 14 e 30 dias).

MATERIAL E MÉTODOS

Procedimentos Clínicos

Para o presente experimento foram selecionados 45 dentes superiores anteriores com câmara pulpar intacta, necrose pulpar, ausência de resposta ao teste de sensibilidade pulpar e reação periapical crônica visível radiograficamente. Não foram incluídos neste estudo dentes com sintomatologia dolorosa, mobilidade ou bolsa periodontal e dentes de pacientes que relatavam utilização de terapia antimicrobiana.

Após a seleção e a autorização do paciente para a realização da pesquisa, foi realizada, no dente selecionado, uma profilaxia e posterior isolamento com dique de borracha. Procedeu-se a anti-sepsia do campo operatório com álcool iodado a 0,3% e neutralização com álcool/éter (partes iguais).

Uma fresa esférica diamantada, de diâmetro compatível com o volume da câmara pulpar, movimentada em alta rotação foi empregada para abertura da mesma.

A seguir, foi realizada a coleta do material, para o primeiro exame microbiológico, com a utilização de cones de papel absorvente n.º 15 previamente esterilizados. Foram utilizados, sucessivamente, três cones de papel absorvente em cada canal radicular, deixados por um minuto e em seguida, transferidos para um tubo de ensaio, devidamente identificado, contendo 3,0 mL de Fluido de Transporte Reduzido (RTF) para a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (ufc) de bactérias.

Posteriormente, procedeu-se à abertura coronária, neutralização progressiva do conteúdo séptico-tóxico do canal radicular⁶ e preparo biomecânico, sempre com irrigação/aspiração utilizando-se hipoclorito de sódio a 5,0%.

A secagem do canal radicular foi realizada com cones de papel e o mesmo preenchido totalmente com a pasta Calen (hidróxido de cálcio) + paramonoclorofenol canforado: hidróxido de cálcio 2,5g; óxido de zinco 1,0g; colofônio 0,05g; polietilenoglicol 400 1,75 mL; paramonoclorofenol canforado (2,5:7,5) 0,15 mL; preparada no Laboratório da Disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Câmpus de Araraquara. A seguir, foi colocada uma bolinha de algodão esterilizada na entrada do canal radicular e o selamento coronário foi realizado com Cimpat.

Os períodos de tempo estabelecidos para permanência da medicação intracanal foram de 7, 14 e 30 dias. Para cada período de tempo, foram selecionados 15 dentes. Decorridos os períodos predeterminados, o paciente retornou e teve seu dente aberto nas mesmas condições relatadas anteriormente. Removeu-se toda medicação intracanal, realizou-se irrigação/aspiração com soro fisiológico e secagem do canal radicular com cones de papel absorvente, permanecendo o mesmo vazio. Foi colocada uma bolinha de algodão em sua entrada e procedeu-se o selamento coronário com Cimpat.

Completados sete dias do último procedimento, o paciente retornou para atendimento quando, seguindo-se as normas e os cuidados até então descritos, uma segunda coleta microbiológica foi realizada.

Posteriormente realizou-se irrigação/aspiração do canal radicular com hipoclorito de sódio a 5,0%, utilização de solução de ácido etileno diaminotetracético, por três minutos, irrigação final com soro fisiológico, secagem com cones de papel, e obturação com cones de guta-percha e cimento Sealapex.

Procedimentos Laboratoriais

No Laboratório de microbiologia, o tubo de ensaio com RTF contendo cones de papel, foi submetido à agitação em um vibrador (Mixtron-Toptronix) com velocidade máxima por dois minutos para dessorção de microrganismos adsorvidos e/ou absorvidos. Esta suspensão foi submetida à diluição decimal até 10^{-5} em tampão fosfato Sfrensen e 0,05 mL inoculados na superfície dos meios de cultura ágar sangue (contagem total de ufc, anaeróbios e aeróbios), ágar mitis salivarius (contagem de ufc e estroptococos) e ágar SB₂₀ (ufc de estreptococos do grupo mutans) inclusive 0,05 mL da suspensão não-diluída. A seguir foram semeadas uniformemente, com auxílio de bastão angulado em L, em condições assépticas.

As placas semeadas foram incubadas em jarras de anaerobiose em atmosfera de microaerofilia, obtida pelo sistema de vela, a 37°C por 48 horas. Decorrido o período de incubação, as colônias foram contadas com auxílio de microscópio estereoscópico e os valores anotados em fichas para cálculo do número de ufc por canal radicular.

RESULTADOS

Para este estudo foram selecionados inicialmente 45 pacientes, dos quais apenas dois não compareceram a segunda sessão e o material coletado de um paciente foi perdido devido a problemas técnicos, totalizando uma amostra final de 42 canais radiculares.

Todas as amostras obtidas destes 42 canais radiculares resultaram em culturas positivas para microrganismos anaeróbios facultativos, e 35 para estreptococos. Após o preparo biomecânico e a utilização de medicação intracanal por 7, 14 ou 30 dias e o canal radicular ter permanecido vazio por uma semana, 22 amostras resultaram em culturas negativas, sendo quatro para microrganismos anaeróbios facultativos e 18 para estreptococos (Tabela 1).

A aplicação do teste de Wilcoxon, conforme Tabela 2, demonstrou diferença estatisticamente significativa, ao nível de significância de 5,0% ($p < 0,05$) entre as amostras microbiológicas obtidas antes do preparo biomecânico e

após a utilização da associação Calen + paramonoclorofenol canforado, para todos os períodos de tempo testados, tanto para o meio de cultura Ágar sangue (As) como para o meio de cultura Mitis salivarius (Ms).

Após o preparo biomecânico, a permanência da pasta Calen + paramonoclorofenol canforado por sete dias e o canal radicular ter sido deixado vazio por uma semana, o número médio de ufc de microrganismos anaeróbios facultativos e estreptococos foi reduzido em 97,8% e 98,8% respectivamente. No grupo onde o curativo de demora

Tabela 1. Casos com cultura positiva para microrganismos anaeróbios facultativos totais e estreptococos, antes e após o tratamento de dentes de humanos *in vivo* com Calen+paramonoclorofenol canforado por 7, 14 e 30 dias.

Período	7 dias		14 dias		30 dias	
	Total	Estreptococos	Total	Estreptococos	Total	Estreptococos
Antes	14	12	15	12	13	11
Após	14	9	13	8	11	7
Redução	0,0%	25,0%	13,3%	33,3%	15,4%	36,6%

Tabela 2. Valores de Z e p, de acordo com análise estatística das amostras obtidas do meio de cultura de Ágar sangue (anaeróbios facultativos totais) e Mitis salivarius (estreptococos), antes e após a utilização da pasta Calen+paramonoclorofenol canforado por 7, 14 e 30 dias.

Grupos	7 dias		14 dias		30 dias	
	As	Ms	As	Ms	As	Ms
Z	- 2,605	- 1,992	- 2,329	- 1,957	- 2,691	- 2,134
p	0,009 *	0,046 *	0,020 *	0,049 *	0,007 *	0,033 *

ns = não significativo

* = significativo a 5,0%

permaneceu por 14 dias, a redução do número médio de ufc de microrganismos anaeróbios facultativos e estreptococos foi de 98,5% e 99,5% respectivamente. Após o período de tempo de 30 dias com a medicação intracanal, o número médio de ufc de microrganismos anaeróbios facultativos e estreptococos foi reduzido em 99,7% e 99,5% respectivamente (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3. Média de ufc, em termos de log, de microrganismos anaeróbios facultativos totais antes e após o tratamento de dentes de humanos *in vivo* com Calen+ paramonoclorofenol canforado por 7, 14 e 30 dias e redução em termos de porcentagem e log.

Período	7 dias (14)*		14 dias (15)		30 dias (13)	
	ufc	log	ufc	log	ufc	log
Antes	1.424.659 (14,0x10 ⁵)	6,154	1.643.45 (16,0x10 ⁵)	6,216	1.397.602 (14,0x10 ⁵)	6,145
Após	31.437 (0,31x10 ⁵)	4,497	25.225 (0,25x10 ⁵)	4,402	4.277 (0,04x10 ⁵)	3,631
Redução	97,8%	1,7	98,5%	1,8	99,7%	2,5

Tabela 4. Média de ufc, em termos de log, de estreptococos antes e após o tratamento de dentes de humanos *in vivo* com Calen+ paramonoclorofenol canforado por 7, 14 e 30 dias e redução em termos de porcentagem e log.

Período	7 dias		14 dias		30 dias	
	ufc	log	ufc	log	ufc	Log
Antes	136.963 (1,3x10 ⁵)	5,137	511.023 (5,1x10 ⁵)	5,708	62.074 (0,6x10 ⁵)	4,793
Após	1.634 (0,01x10 ⁵)	3,213	2.605 (0,02x10 ⁵)	3,416	337 (0,003x10 ⁵)	2,528
Redução	98,8%	1,9	99,5%	2,3	99,5%	2,3

A Tabela 5 mostra que não houve diferença estatisticamente significativa (teste Kruskal-Wallis), ao nível de significância de 5,0% ($p > 0,05$), entre as amostras microbiológicas coletadas após a utilização da medicação intracanal em relação a variável tempo, ou seja 7, 14 e 30 dias, tanto para os microrganismos anaeróbios facultativos (As) como para os estreptococos (Ms).

Do total das 42 amostras microbiológicas coletadas antes do preparo biomecânico, os estreptococos do grupo mutans estavam presentes somente em dez. Após o preparo biomecânico e a utilização da medicação intracanal, apenas três amostras apresentaram cultura positiva, sendo duas do grupo em que o curativo de demora permaneceu por sete dias e uma do grupo de 14 dias. Todas as amostras coletadas após a permanência da medicação intracanal por 30 dias apresentaram cultura negativa para os estreptococos do grupo mutans.

Tabela 5. Valores de qui-quadrado, df e p, de acordo com análise estatística das amostras microbiológicas coletadas após a utilização da medicação intracanal por 7, 14 e 30 dias.

Grupos	7/14/30 dias	
	As	Ms
qui-quadrado	2,044	1,070
df	2	2
p	0,380 ns	0,580 ns

DISCUSSÃO

A eficácia antimicrobiana e a biocompatibilidade da associação hidróxido de cálcio + paramonoclorofenol canforado já foram demonstradas em pesquisas laboratoriais e em animais de experimento^{7,14}. No entanto, poucas informações estão disponíveis na literatura concernentes ao tempo durante o qual essa medicação deve permanecer no interior do canal radicular em condições clínicas. Resultados comparativos obtidos *in vitro* e com animais, quando extrapolados para o homem, nem sempre são os mais fidedignos.

Foram excluídos deste trabalho dentes que apresentavam sintomatologia dolorosa, bolsa periodontal e mobilidade, porque tem sido demonstrada, em casos de dentes com sintomatologia dolorosa, uma diferença na composição da microbiota dos canais radiculares, havendo uma predominância, nesses casos, de certas espécies de bactérias pertencentes ao gênero *Porphyromonas*, *Prevotella* e *Peptostreptococcus*, como também tem sido demonstrada a similaridade entre as microbiotas do canal radicular e das bolsas periodontais, evidenciando a possibilidade da infecção de um sítio alcançar o outro¹¹.

A coleta do material para determinação de Unidades Formadoras de Colônias de bactérias foi realizada utilizando-se três cones de papel absorvente, seqüencialmente introduzidos no canal radicular durante um minuto, baseada no estudo de Serene e McDonald (1969)¹³.

A solução utilizada para transporte foi o Fluido de Transporte Reduzido (RTF), preparado de acordo com Syed e Loesche¹⁹ que, pesquisando diferentes meios de transporte, demonstraram que o RTF mantém a viabilidade e a contagem original de células até 24 horas em temperatura ambiente.

A primeira coleta microbiológica foi realizada antes do preparo biomecânico e a segunda sete dias após a remoção do curativo de demora e o canal radicular ter

permanecido vazio. De acordo com trabalhos realizados por Matsumya e Kitamura⁹, as coletas microbiológicas realizadas imediatamente após o preparo biomecânico não refletem as verdadeiras condições bacteriológicas do sistema de canais radiculares, mas sim e tão somente, as condições da luz do canal radicular principal. Reit e Dahlén¹² investigando a validade das amostras microbiológicas retiradas imediatamente após a remoção do curativo de demora e das amostras retiradas sete dias mais tarde, demonstraram sensibilidade e especificidade do teste microbiológico em 33,0% e 81,0% respectivamente.

De acordo com os resultados do presente estudo, todas as 42 amostras microbiológicas coletadas dos canais radiculares antes do preparo biomecânico apresentaram crescimento de microrganismos anaeróbios facultativos, e 35 de estreptococos.

O número médio de Unidades Formadoras de Colônias de microrganismos anaeróbios facultativos antes do preparo biomecânico variou entre $14,0 \times 10^5$ e $16,0 \times 10^5$, enquanto o de estreptococos variou entre $0,6 \times 10^5$ e $5,1 \times 10^5$.

Segundo Sundqvist¹⁸ a densidade bacteriana no canal radicular em dentes humanos com necrose pulpar e reação periapical crônica varia entre 10^2 e 10^8 . E este número parece ter relação com o tamanho da lesão periapical e o seu tempo de desenvolvimento. Ainda, existe um consenso na literatura de que a microbiota do canal radicular de dentes com polpa necrosada, câmara pulpar intacta e lesão periapical seja predominantemente anaeróbia^{16,18}.

Os resultados do presente estudo evidenciaram uma predominância de aproximadamente 88,0% de microrganismos anaeróbios facultativos. Porcentagem essa superior às relatadas por Zavistoski et al.²¹ e Baumgartner e Falkler Jr.³ que foram, respectivamente, de 63,3% e 68,0% e inferior à relatada por Sundqvist¹⁸, que foi de 90,0%, e Assed², de 96,0%.

Ainda, das 42 amostras analisadas antes do preparo biomecânico, apenas dez continham estreptococos do grupo mutans e em número reduzido. Apesar destas bactérias serem regularmente encontradas na cavidade bucal de humanos, não se apresentaram em número expressivo nos canais radiculares, provavelmente devido a pequena comunicação entre a cavidade bucal e os canais radiculares, desde que, foram selecionados para este experimento dentes com câmara pulpar fechada.

Os resultados deste estudo mostraram uma redução de 97,8% do valor médio de ufc de microrganismos

anaeróbios facultativos e de 98,8% de estreptococos após sete dias de curativo de demora de Calen+ paramonoclorofenol canforado. Resultados esses ligeiramente superiores aos relatados por Assed² que, após sete dias de utilização de Calen + paramonoclorofenol canforado, em canais radiculares de dentes humanos com necrose pulpar e reação periapical crônica, encontrou uma redução de 95,0%. Os resultados deste estudo apresentaram-se em desacordo com os de Silveira¹⁴ que não encontrou diferença estatisticamente significativa entre os números de ufc no canal radicular de dentes de cães, com lesões periapicais induzidas, antes e após o curativo de demora de Calen + paramonoclorofenol canforado ter sido utilizado por sete dias.

Após permanecer por 14 dias, a pasta Calen+paramonoclorofenol canforado reduziu, de acordo com o presente estudo, em 98,5% os microrganismos anaeróbios facultativos e em 99,5% os estreptococos. Estes resultados são concordantes com os de Silveira¹⁴ que relatou diferença estatisticamente significativa entre as amostras microbiológicas coletadas antes do preparo biomecânico e após a utilização do curativo de demora por 15 dias. De acordo com Takahashi et al.²⁰, o tempo mínimo necessário para que o hidróxido de cálcio puro, ou associado ao propilenoglicol, desempenhe suas propriedades é de pelo menos duas semanas.

No período de tempo de 30 dias após a utilização da pasta Calen+paramonoclorofenol canforado, houve redução de 99,7% do valor médio de ufc de microrganismos anaeróbios facultativos e de 99,5% de estreptococos. Estes resultados também estão de acordo com os de Silveira¹⁴ que obteve os melhores resultados de cultura microbiológica após a utilização dessa associação por 30 dias.

Estudos *in vitro* têm mostrado que bactérias comumente encontradas em canais radiculares infectados rapidamente são eliminadas quando expostas ao hidróxido de cálcio, mesmo quando utilizado por poucos minutos, devido ao contato direto¹⁵. No entanto, *in vivo*, o hidróxido de cálcio tem se mostrado inefetivo por curtos períodos de tempo, além do que bactérias podem estar localizadas distantes de sua ação¹⁷. Assim, a manutenção do hidróxido de cálcio por um período mais longo de tempo poderia eventualmente permitir a contínua difusão dos íons hidroxila, suficiente para eliminação da maioria das bactérias remanescentes após o preparo biomecânico⁶.

CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos, foi possível concluir que:

1 - Todos os dentes com necrose pulpar e reação periapical crônica apresentaram microrganismos no canal radicular antes do preparo biomecânico, havendo uma predominância de microrganismos anaeróbios facultativos.

2 - Após o preparo biomecânico e a utilização da associação Calen + paramonoclorofenol canforado como medicação intracanal por 7, 14 ou 30 dias, houve uma redução no número de microrganismos anaeróbios de 97,8%, 98,5% e 99,7% e de estreptococos de 98,8%, 99,5% e 99,5% respectivamente.

ABSTRACT

The objective of this work was to detect microorganisms in the root canal before biomechanical preparation and after using intracanal medication in human teeth with pulpal necrosis and periapical chronic reaction. In all, 45 anterior upper teeth with pulpal necrosis and chronic periapical reaction were selected, as indicated by radiograph. Before biomechanical preparation, the first sample of material was collected to determine microbial counting. Following biomechanical preparation, the root canals received intracanal medication. After 7, 14 and 30 days, the intracanal medication was removed. The empty root canals remained sealed for seven days, and the second microbiological sample was collected and the final filling effected. The results showed that all the root canals presented positive culture before biomechanical preparation for facultative anaerobes and 35 also for streptococci. After biomechanical preparation and intracanal medication during 7, 14 and 30 days, a reduction of 97.8%, 98.5% and 99.7% was observed in the anaerobic microorganisms, and of 98.8%, 99.5% and 99.5%, in the streptococci, respectively. It was concluded that teeth with pulpal necrosis and chronic periapical reaction present an increased number of predominantly anaerobic organisms, and that the combined use of Calen + camphorated paramonochlorophenol led to a 97.0% reduction in the root canal microorganisms.

Key words: Calcium hydroxide; microorganisms; pulp necrosis

1. Alencar AHG. Avaliação da presença do p-monoclorofenol e do efeito antimicrobiano residual da associação hidróxido de cálcio (Calen) + p-monoclorofenol utilizada como medicação intracanal em dentes de cães despulpados e reação periapical crônica induzida. (Dissertação). Araraquara, São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista. 1995. 105 p.
2. Assed S. Prevalência de microrganismos em canais radiculares de dentes humanos com reação periapical crônica. Efeito do preparo biomecânico e do curativo de demora. Imunofluorescência indireta e cultura. (Livre Docência). Ribeirão Preto, São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. 1993. 110 p.
3. Baumgartner JC, Falkler Jr WA. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *J Endod.* 1991; 17: 380-383.
4. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res.* 1981; 89: 321-328.
5. Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J.* 1985; 18: 35-40.
6. Leonardo MR, Leal JM. Endodontia: tratamento de canais radiculares. 3 ed. São Paulo: Médica Panamericana, 1998: 401.
7. Leonardo MR, Almeida WA, Silva LAB, Utrilla LS. Histopathological observations of periapical repair in teeth with radiolucent areas submitted to two different methods of root canal treatment. *J Endod.* 1995; 21: 137-141.
8. Leonardo MR, Silva RS, Silva LAB, Assed S. Determinação de íons Ca^{+2} , pH e solubilidade de pastas à base de hidróxido de cálcio contendo PMC e PMCC. *Rev Bras Odontol.* 1993; 50: 5-10.
9. Matsumiya S, Kitamura M. Histopathological and histobacteriological studies of the relation between the condition of sterilization of the interior of the root canal and the healing process of periapical tissues in experimentally infected root canal treatment. *Bull Tokyo Dent Coll.* 1960; 1: 1-19.
10. Nerwich A, Frigdor D, Messer HH. pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod.* 1993; 19: 302-306.
11. Ramachadan Nair PN. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontol* 2000. 1997; 13: 121-148.
12. Reit C, Dahlén G. Decision making analysis of endodontic treatment strategies in teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1988; 21: 291-299.
- 13- Serene TP, McDonald ED. Endodontic culturing: a statistical study. *J Am Dent Assoc.* 1969; 78: 1013-1015.
14. Silveira FF. Efeito do tempo de ação do curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, utilizado em canais radiculares de dentes de cães com lesão periapical crônica induzida. Análise histológica e microbiológica. (Dissertação). Araraquara, São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista. 1997. 218 p.
15. Siqueira Jr JF, Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide paste of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod.* 1996; 22: 674-676.
16. Sjögren U. Success and failure in endodontics. (Dissertation). Umea, Sweden: Umea University Odontological. 1996. 87 p.
17. Sjögren U, Figdor D, Spangberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J.* 1991; 24: 119-125.

18. Sundqvist, G. Ecology of the root canal flora. *J Endod.* 1992; 18: 427-430.
19. Syed SA, Loesche WJ. Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl Microbiol.* 1972; 24: 638-644.
20. Takahashi G, Hosoya N, Takizawa H, Nakamura J. Periapical environment after applying Ca(OH)₂ into root canal in vitro. *J Dent Res.* 1996; 75: 52.
21. Zavistoski J, Dzink J, Onderdonk A, Bartlett J. Quantitative bacteriology of endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980; 49: 171-174.