

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

LUCIANA BATISTA LUZ

ANÁLISE DO pH E AÇÃO ANTIMICROBIANA DE SOLUÇÕES E GÉIS DE  
HIPOCLORITO DE SÓDIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

Porto Alegre

2013

LUCIANA BATISTA LUZ

ANÁLISE DO pH E AÇÃO ANTIMICROBIANA DE SOLUÇÕES E GÉIS DE  
HIPOCLORITO DE SÓDIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Bonato Luisi

Porto Alegre

2013

#### CIP – Catalogação na Publicação

Luz, Luciana Batista.

Análise e ação antimicrobiana de soluções e géis de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações / Luciana Batista Luz. – 2013.

30 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Curso de Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2013.

Orientador: Simone Bonato Luisi

1. Hipoclorito de sódio. 2. pH. 3. Enterococcus faecalis. 4. Endodontia. 5. Irrigantes do canal radicular. I. Luisi, Simone Bonato. II. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço

À minha orientadora e Professora Simone Bonato Luisi pela incansável dedicação, ensinamento, confiança e apoio prestado para a realização deste trabalho.

Ao Professor Francisco Montagner pela paciência, ensinamento, dedicação e boa vontade em todas as etapas.

Ao Professor Régis Burmeister dos Santos por ter me dado a oportunidade de trabalhar juntamente com a equipe da Endodontia da FO-UFRGS, pelos ensinamentos, atenção e conselhos para o desenvolvimento deste trabalho.

À professora Ruth Marlene Campomanes pela disponibilidade dos laboratórios da faculdade de Engenharia de Materiais da FO-UFRGS, pelo conhecimento e instruções passadas para a formulação de uma base para o gel de hipoclorito de sódio.

Principalmente aos meus pais, pelo amor, dedicação, confiança, amparo e principalmente pela lição de vida que me passam, sendo um exemplo de pessoas e profissionais com princípios, dignidade e donos de um caráter magnífico.

## RESUMO

LUZ, L. B. **Análise do pH e ação antimicrobiana de soluções e géis de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações.** 2013. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o pH e a ação antimicrobiana de soluções e géis de hipoclorito de sódio a 0,5%, 1%, 2,5% e 5,25% em função do tempo de contato (15”, 30”, 1’, 5’ e 10’). A ação antimicrobiana foi avaliada através da técnica de diluição em caldo frente ao microrganismo *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). As estirpes foram subcultivadas em placas de BHIA e então foram suspensas em tubos com BHI caldo. Foram utilizadas dez placas de cultura com seis poços. No primeiro poço de cada placa estavam os microrganismos suspensos no BHI caldo e a substância química auxiliar, estes eram transportados para os poços seguintes, onde estava o meio de cultura e o agente neutralizador. Cada poço representava um tempo de contato. As placas foram incubadas a 37°C com 10% de CO<sub>2</sub>. Para analisar os resultados, observou-se a turvação ou não dos poços. Para verificar a presença de microrganismos viáveis, foi plaqueado 25µL da suspensão contida em cada poço em meio BHI Agar. As placas também foram incubadas a 37°C com 10% de CO<sub>2</sub>. Também foi aferido o pH de cada amostra, através de um pHmetro digital. Dentre as soluções de hipoclorito de sódio, todas tiveram ação antimicrobiana com exceção daquelas com concentração de 0,5% com tempo de contato de até 30 segundos. Dentre os géis de hipoclorito de sódio, todos tiveram ação antimicrobiana com exceção daqueles com concentração de 0,5% com tempo de contato de até 5 minutos. As soluções apresentaram um pH entre 11,69 e 12,56 e os géis entre 9,3 e 10,46. Diante dos resultados obtidos, concluiu-se que as soluções e géis de hipoclorito de sódio com concentrações entre 1 a 5,25% demonstram ação antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis* em períodos de 15 segundos a 10 minutos. Tanto as soluções quanto os géis de hipoclorito de sódio apresentam pHs alcalinos superiores a 9. Mais estudos são necessários para avaliar outras propriedades do gel de hipoclorito de sódio.

Palavras-chave: Hipoclorito de sódio, pH, *Enterococcus faecalis*, Endodontia, Irrigantes do canal radicular.

## ABSTRACT

LUZ, L. B. **pH analysis and antimicrobial action of sodium hypochlorite solutions and gels at different concentrations.** 2013. 31 f. Final Paper (Graduation in Dentistry)– Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

The present study aimed to evaluate the pH and antimicrobial activity solutions and gels of sodium hypochlorite 0.5%, 1%, 2.5% and 5.25% according to the contact time (15 ", 30 ", 1 ', 5' e 10'). The antimicrobial activity was evaluated by broth dilution technique against *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). The strains were subcultured on BHIA plates and were suspended in tubes with BHI broth. Ten culture plates with six wells were used. The microorganisms were suspended in BHI broth with the auxiliary chemical substance in the first well of each plate. It was transferred to the next wells where was the culture medium and the neutralizing agent. Each well represented a time of contact. The plates were incubated at 37 ° C with 10% CO<sub>2</sub>. To review the results, was observed the the turbidity or not the wells. To verify the presence of viable microorganisms, 25µL of the suspension in each well was plated on BHI agar. The plates were also incubated at 37 ° C with 10% CO<sub>2</sub>. The pH of each sample was measured using a digital pH meter. Among the solutions of sodium hypochlorite, all had antimicrobial activity, except those with a concentration of 0.5% with a contact time until of 30 seconds. Among the gels of sodium hypochlorite, all had antimicrobial activity except those of 0.5% concentration with contact time of up to 5 minutes. The solutions had a pH between 11.69 and 12.56 and the gels had a pH between 9,3 and 10,46. Based on these results, it was concluded that the gels and solutions of sodium hypochlorite at concentrations between 1 and 5,25% showed antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis* in periods of 15 seconds to 10 minutes. Both gels as solutions of sodium hypochlorite have superiores alkaline pH to 9. More studies are needed to evaluate other properties of gel sodium hypochlorite.

Keywords: Sodium hypochlorite, pH, *Enterococcus faecalis*, Endodontics, Root canal irrigants.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	7
1.1 HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	7
1.2 GEL DE HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	9
1.3 pH, CONCENTRAÇÃO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	9
1.4 METODOLOGIA.....	11
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	13
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	14
3.1 PREPARO DAS SOLUÇÕES E GÉIS DE HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	14
3.2 AÇÃO ANTIMICROBIANA.....	14
3.3 pH DAS SOLUÇÕES E GÉIS.....	17
<b>4 ANÁLISE DESCRITIVA</b> .....	18
<b>5 RESULTADOS</b> .....	19
5.1 MÉTODO DE DILUIÇÃO EM CALDO.....	19
5.2 pH DAS SOLUÇÕES E GÉIS DE HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	21
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	22
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	25
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	26
<b>APÊNDICE A – PLACAS COM MEIOS DE CULTURA PARA SOLUÇÃO DE NaOCl</b> .....	29
<b>APÊNDICE B – PLACAS COM MEIOS DE CULTURA PARA GEL DE NaOCl</b> .....	30
<b>APÊNDICE C – PLACAS COM MEIOS DE CULTURA PARA GRUPOS CONTROLE</b> .....	31

## 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O preparo mecânico não prescinde da colaboração de auxiliares químicos para eliminar bactérias do canal radicular. Estas soluções devem apresentar algumas propriedades como ser solvente de tecidos orgânicos e inorgânicos, ter ação antimicrobiana, não ser tóxico para os tecidos periapicais, apresentar baixa tensão superficial e ação lubrificante (SHABAHANG; POURESMAIL; TORABINEJAD, 2003; YESILSOY et al., 1995).

Ferraz et al. (2001) também afirmam que algumas das bactérias encontradas na microbiota do canal radicular podem ser removidas simplesmente pela ação mecânica de instrumentos endodônticos. No entanto, devido às complexidades anatômicas de vários canais radiculares, mesmo após meticulosos procedimentos mecânicos, os resíduos orgânicos e as bactérias localizadas na extensão dos túbulos dentinários não podem ser atingidos.

### 1.1 HIPOCLORITO DE SÓDIO

O hipoclorito de sódio (NaOCl) foi utilizado pela primeira vez em 1792, misturado com potássio, produzido quimicamente por Frapor Claude Louis Berthollet e industrialmente produzido por Percy. Recebeu o nome de água de Javele e foi usado, primeiramente, como um agente clareador (ZEHNDER, 2006).

Em 1820 Labarraque obteve o hipoclorito de sódio com teor de cloro ativo de 2,5% para desinfetar feridas. Já, durante a Primeira Guerra Mundial em 1915, Dakin observou que a cicatrização com a solução de Labarraque ocorria muito lentamente e isso acontecia em decorrência da alta concentração de hidróxido de sódio, que causava a irritação dos tecidos, independente da concentração do hipoclorito de sódio. Então, propôs o teor de cloro de 0,5% com pH 11, tamponado com ácido bórico 0,4%, reduzindo o pH da solução para em torno de 9, tornando-a mais neutra, menos estável, porém permitindo a ação desinfetante sem ação das hidroxilas livres. Essa nova solução ficou conhecida como solução de Dakin. (PÉCORA; SOUZA; ESTRELA, 1999; ZEHNDER et al. 2002).

Somente em torno de 1917, Barret implantou o uso da solução de hipoclorito de sódio na prática endodôntica, através da solução de Dakin para irrigação dos canais radiculares. Já em 1936, Walker propôs hipoclorito de sódio a 5% (soda clorada), como agente irrigante, para o preparo de canais radiculares de dentes com polpas necrosadas (BORIN; BECKER; OLIVEIRA, 2007).



O hipoclorito de sódio é o irrigante do canal radicular mais utilizado devido as suas propriedades físicas, químicas e antibacterianas (PELCZAR, 1980; NEAL, 1983; BUSSLINGER, 1988; GOMES, 1996; GERNHARDT, 2004). Exerce ação antimicrobiana sobre diferentes espécies incluindo *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Streptococcus intermedius*, *Fusobacterium nucleatum* e *Enterococcus faecalis*. (SPRATT et al, 2001). É o único auxiliar químico que possui a capacidade de dissolver o tecido necrótico e os componentes orgânicos da smear layer (ZAND et al., 2010).

O hipoclorito de sódio tem propriedades antissépticas devido à formação de ácido hipocloroso e posterior liberação de cloro, bactericida muito ativo. O cloro livre liberado pelo NaOCl dissolve tecidos necróticos por quebrar as proteínas e aminoácidos. Este efeito é conseguido nas concentrações que variam de 0,5% a 5,25% (TORABINEJAD, WALTON, 2009).

Sendo assim, a eficiência da desinfecção do hipoclorito de sódio depende da concentração de ácido hipocloroso em solução não dissociada. O ácido hipocloroso exerce seu efeito germicida por uma ação oxidativa em grupos sulfidril de enzimas bacterianas. Como as enzimas bacterianas essenciais são bloqueadas, reações metabólicas importantes são afetadas, resultando em inibição de células bacterianas (DYCHDALA<sup>1</sup>, 1991 apud GOMES et al. 2001).

No entanto, existem algumas desvantagens para o uso de NaOCl. Além do seu potencial para causar corrosão, mau cheiro e sabor (NEAL et al., 1983; BUSSLINGER et al., 1998) ele é tóxico para os tecidos, causando hemólise, ulceração e inibição da migração de neutrófilos. Após a extrusão acidental durante o tratamento endodôntico são constatados danos às células endoteliais e fibroblastos, reação alérgica, dor, inchaço e necrose (PONTES et al. 2008). O NaOCl é uma solução alcalina com um pH aproximadamente entre 11 e 12. Ele provoca lesões principalmente por oxidação de proteínas. Em uma concentração de 0,25%, a solução de hipoclorito de sódio já é significativamente tóxica para os tecidos, ocorrendo grave inflamação e destruição celular em todos os tecidos, exceto para epitélios bastante queratinizados (MEHRA, CLANCY, 2000).

---

<sup>1</sup> DYCHDALA, G.R. Chlorine and chlorine compounds. In : **Block SS, ed. Disinfection, Sterilization, and Preservation**, 4 th edn. Philadelphia, Lea and Febiger, p. 133-135, 1991 apud GOMES et al, 2001, p. 426.

## 1.2 GEL DE HIPOCLORITO DE SÓDIO

O uso da forma de hipoclorito de sódio em gel, poderia reduzir o risco de extrusão de NaOCl para os tecidos periapicais. Segundo o estudo de Vahid Zand, o uso de gel de NaOCl pode ser eficaz na remoção da smear layer e ainda assim eliminar os efeitos colaterais da solução de NaOCl (ZAND et al., 2010).

Tucker, Mizrahi e Seltzer (1976), sugeriram a utilização de auxiliares químicos, como peróxido de uréia ou gluconato de clorexidina com base em glicerina anidra. Esta formulação conferiria uma ação mais lubrificante e valorizaria a propriedade antimicrobiana.

Viana e Gomes (2009) tiveram como objetivo investigar *in vitro* a eficácia da combinação de hipoclorito de sódio com clorexidina, gel ou solução, em diferentes concentrações contra *Enterococcus faecalis*. Em seus resultados, relataram que o gel de clorexidina 2% sozinho mostrou forte ação antimicrobiana, maior que a solução de clorexidina sozinha.

As propriedades mecânicas do gel parecem ser o principal fator para a sua escolha como um auxiliar químico para o preparo do canal radicular. O agente químico mesmo quando usado em apresentação líquida exibe uma menor eficiência de limpeza. A formulação em gel também pode manter o princípio ativo da solução em contato com os microrganismos por mais tempo, inibindo seu crescimento além de possuir ação lubrificante durante a instrumentação (GOMES et al., 2001).

Durante o preparo do canal radicular, as soluções irrigadoras utilizadas devem ser lubrificantes, solúveis em água, biocompatíveis com os tecidos periapicais, devem ter contato com os microrganismos e precisam remover a smear layer. As formulações em gel apresentam todas essas vantagens (FERRAZ et al., 2001).

Uma das modificações propostas para melhorar a ação do hipoclorito de sódio e diminuir os riscos de extravasamento para os tecidos periapicais seria a utilização de um auxiliar químico viscoso, melhorando a ação lubrificante e a propriedade antimicrobiana do hipoclorito de sódio (POGGIO et al., 2010).

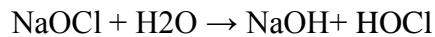
## 1.3 pH, CONCENTRAÇÃO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO

Segundo Christensen, et al. (2008), são três os fatores mais importantes para determinar a capacidade do hipoclorito de sódio de dissolver tecidos orgânicos. Sendo eles o tempo de contato entre a solução irrigadora e o tecido, a concentração do agente irrigante e o

pH. Christensen et al. (2008) observaram que quando se reduz o pH da solução, o tempo de contato se torna maior, para uma mesma dissolução de tecidos.

Se tratando do potencial hidrogeniônico (pH) das soluções de hipoclorito de sódio, à medida que se reduz o pH da solução, aumenta a sua instabilidade e a velocidade de perda de cloro (BAKER et al., 1975).

Quando NaOCl é adicionado à água, sofre a seguinte reação:



Em solução aquosa, o ácido hipocloroso se dissocia parcialmente em ânion hipoclorito:



O hipoclorito de sódio atua como um solvente para os ácidos graxos, transformando-os em sais de ácidos graxos (sabão) e glicerol (álcool), a fim de reduzir a tensão superficial da solução remanescente. Além disso, também neutraliza os aminoácidos, formando água e sal (reação de neutralização) (ESTRELA, 2002a).

Com a liberação de hidroxilas e a redução do pH da solução remanescente, o ácido hipocloroso, quando em contato com a matéria orgânica, age como solvente, liberando cloro, que, em contato com proteínas do grupo amina, forma cloraminas, constituindo, assim, a reação de cloraminação. Em decorrência disso, o ácido hipocloroso e os íons de hipoclorito apresentam a propriedade de hidrolisar e degradar aminoácidos. A reação de cloraminação, mais especificamente, interfere no metabolismo celular através da liberação de cloraminas, causando inibição enzimática bacteriana, a partir de uma reação irreversível nas bactérias (ESTRELA et al. 2004).

A eficácia antimicrobiana do hipoclorito de sódio, com base no seu pH elevado, é semelhante ao mecanismo de ação do hidróxido de cálcio. O pH elevado do hipoclorito de sódio interfere na integridade da membrana citoplasmática bacteriana, com uma inibição irreversível, ocorrendo modificações biossintéticas enzimáticas no metabolismo celular e a degradação observada em fosfolípido da peroxidação lipídica. (ESTRELA et al., 1994)

Pelczar et al. (1980), fizeram menção sobre a influência da matéria orgânica, temperatura, armazenagem e outros fatores como importantes na dissociação do ácido hipocloroso nas soluções de hipoclorito de sódio. Entretanto, reforçaram o pH como sendo o fator de maior importância nesse acontecimento.

O pH ideal que o hipoclorito de sódio deve apresentar para ter mais estabilidade química é em torno de 9 a 11 (SASSONE et al., 2003). Além disso, levando-se em conta a

concentração de hipoclorito de sódio, de acordo com Stojicic et al. (2010), esta é diretamente proporcional à sua capacidade antimicrobiana e solvente de tecido orgânico.

#### 1.4 METODOLOGIA

Para avaliar a ação antimicrobiana de irrigantes endodônticos são encontrados na literatura diferentes métodos. Sendo comumente utilizado o método de difusão em ágar, o método de contato direto ou diluição em caldo e também métodos que utilizam biofilmes bacterianos em dentes (SOUZA et al., 2013).

Para avaliar, in vitro, a atividade antimicrobiana de três diferentes fórmulas de NaOCl (NaOCl solução 5,25%; NaOCl com adição de enzima proteolítica e um tensoativo; gel de NaOCl 5,25%) contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e cepas de *Streptococcus mutans*, o estudo de Poggio et al. (2010) utilizou o teste de disco-difusão em ágar. Os autores colocaram discos de papel saturados com cada uma das soluções de teste sobre culturas de ágar pré-adsorvido com células bacterianas e incubou por 24 horas a 37°C. Para a avaliação dos resultados, Poggio et al. (2010) registraram as zonas de inibição de crescimento em torno de cada solução de irrigação e comparou entre elas.

Tanomaru et al. (2005) avaliaram in vitro a atividade antimicrobiana das soluções irrigadoras à base de hipoclorito de sódio e digluconato de clorexidina. Utilizou a técnica de difusão em ágar, assim como Poggio et al. (2010), porém com o método de poço. Para a realização deste método, foram confeccionados poços pela remoção de ágar (já com a camada base e a camada obtida pela adição de inóculo), com varetas de vidro. Nesses poços confeccionados, foram colocadas as amostras das soluções irrigadoras. Após a incubação, foram adicionadas alíquotas de 5 mL de gel preparado com ágar a 1,0% com 0,05% de cloreto de trifeniltetrazólico para otimização da leitura, quando foram novamente incubados. Os resultados foram obtidos através da mensuração dos halos de inibição com uma régua milimetrada.

Em contra partida, Gomes et al. (2001), que teve como objetivo avaliar, in vitro, a eficácia de várias concentrações de NaOCl (0,5%; 1%; 2,5%; 4% e 5,25%) e duas formas de gluconato de clorexidina (gel e líquido) em três concentrações diferentes (0,2%; 1% e 2%) na eliminação de *Enterococcus faecalis*, utilizou a técnica de contato direto. 1 mL de cada irrigante foi colocado no fundo das placas de cultura onde 6 poços foram usados para cada período e concentração irrigante. 2 mL de suspensão bacteriana foram misturadas ultrassonicamente por 10 segundos com o irrigante e colocado em contato por 10s, 30s, 45s, 1 min, 3 min, 5 min, 10 min, 1 hora e 2 horas. Depois de cada período, 1 mL de cada poço foi

transferido para tubos contendo 2 mL de BHI recém preparados e com neutralizador. Todos os tubos foram incubados a 37°C por uma semana. Os tubos que tiveram crescimento positivo foram aqueles que tiveram turvação dos meios.

## 2 OBJETIVOS

Os objetivos do presente estudo são:

Objetivo geral:

Caracterizar propriedades biológica e química do hipoclorito de sódio em diferentes apresentações (solução e gel).

Objetivos Específicos:

Avaliar a ação antimicrobiana de soluções e géis de hipoclorito de sódio a 0,5%, 1%, 2,5% e 5,25% em função do tempo (15", 30", 1', 5' e 10').

Avaliar o pH de soluções e géis de hipoclorito de sódio a 0,5%, 1%, 2,5% e 5,25%.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 PREPARO DAS SOLUÇÕES E GÉIS DE HIPOCLORITO DE SÓDIO

Para a realização deste experimento foi produzido um gel a partir de uma base coloidal associada a um reticulante, no Laboratório de Materiais Poliméricos (LAPOL) da Faculdade de Engenharia de Materiais da UFRGS. Esta base é um polímero sintético, solúvel em água, possui excelente transparência, é biocompatível, biologicamente inerte, não é mutagênica, nem citotóxica e não tem atividade carcinogênica nem antigênica.

Para conseguir a viscosidade ideal, o gel foi testado em várias concentrações até que chegasse a uma viscosidade semelhante ao gel de clorexidina (padrão), que tem como base o natrosol. A viscosidade do gel de clorexidina gira em torno de 450 cp (centiPoise) para uma temperatura de 25,9 °C com um torque de 17,2 % a 10 RPM (rotações por minuto). A concentração do gel, cuja viscosidade se aproximou mais daquela considerada padrão foi a de 10%, onde a viscosidade se apresentou em torno de 463 cp, para uma temperatura de 24,6°C, a um torque de 51% a 10 RPM. As soluções e géis em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, que foram utilizadas neste experimento (0,5%, 1%, 2,5% e 5%), foram obtidas a partir de uma solução de hipoclorito de sódio a 12% (Farmaquímica S.A./Porto Alegre).

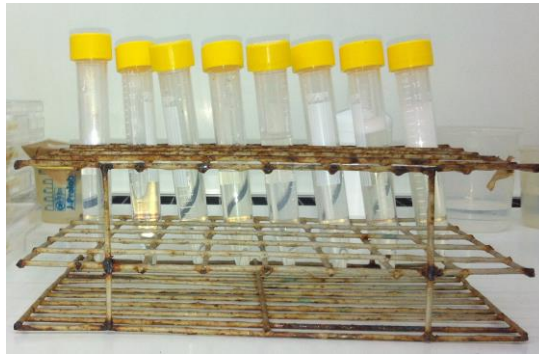
#### 3.2 AÇÃO ANTIMICROBIANA

Para avaliação da ação antimicrobiana das soluções e géis de hipoclorito de sódio realizou-se a Técnica de diluição em caldo, frente ao microrganismo *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Esta metodologia foi adaptada daquela descrita por Vianna et al. (2004).

O microrganismo *Enterococcus faecalis* foi subcultivado em placas de BHIA e incubado por 18-24 h a 37°C (em atmosfera de 10% CO<sub>2</sub>). Preparou-se 250 mL de BHI caldo com tiosulfato de sódio em concentração de 0,5% para que este meio atuasse como neutralizador do hipoclorito de sódio, após este exercer a sua ação no período de tempo determinado.

Após o crescimento em meio sólido, colônias isoladas foram suspensas em tubos contendo 5 mL do meio de cultura líquido apropriado (BHI caldo), conforme mostra a Figura 1. Após agitação mecânica, a suspensão foi ajustada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 600nm a um valor de absorvância de 0.036, com o objetivo de atingir a concentração equivalente a 0.5 da escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  bactérias/mL).

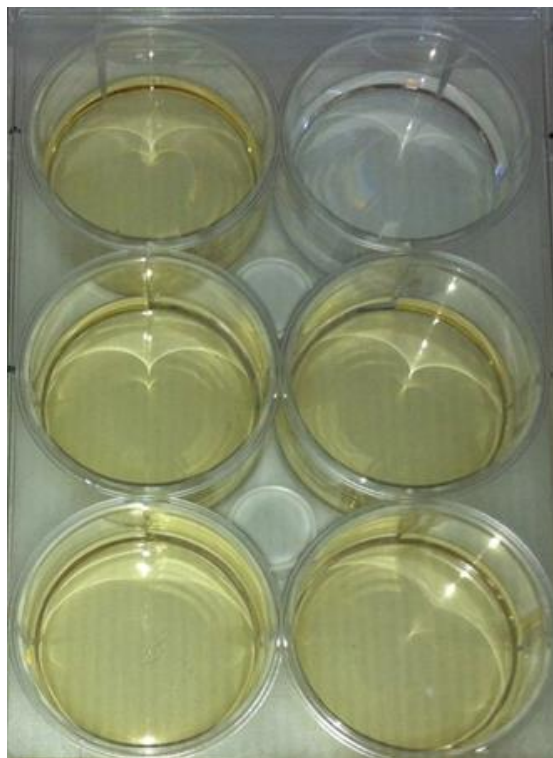
Figura 1 - Tubos com 5 mL de meio de cultura líquido BHI com suspensão de colônias isoladas.



Fonte : autor

Foram utilizadas, no total, dez placas de cultura (TTP), com seis poços cada uma, conforme mostra a Figura 2. Para cada concentração testada (0,5%; 1%; 2,5% e 5,25%), sendo gel ou solução, foi utilizada uma placa de cultura (com seis poços) assim como para os grupos controle (Gel e água destilada).

Figura 2 – Placa de cultura TTP



Fonte: autor



No interior da câmara de fluxo laminar, introduziu-se 2 mL de BHI caldo contendo tiosulfato de sódio 0,5% nos poços 2, 3, 4, 5, e 6 de cada placa. Os géis e soluções foram preparados de acordo com a fórmula:

$$C^1 \cdot V^1 = C^2 \cdot V^2$$

Sendo: C<sup>1</sup>: concentração da solução inicial(12%)

V<sup>1</sup>: volume que precisa ser usado da solução a 12% (x).

C<sup>2</sup>: concentração que se deseja chegar para o gel ou solução.

V<sup>2</sup>: o volume desejado de solução final (10mL).

- Para o preparo do gel e da solução a 0,5% foram adicionados 0,42 mL de NaOCl a 12% em 9,58 mL de gel e água destilada respectivamente.
- Para o preparo do gel e da solução 1% foi necessário 0,83 mL de NaOCl a 12% em 9,17 mL de gel e água destilada, respectivamente.
- Para o preparo do gel e da solução 2,5% foi necessário 2,1 mL de NaOCl a 12% em 7,9 mL de gel e água destilada, respectivamente.
- Para o preparo do gel e da solução 5,25% foi necessário 4,4 mL de NaOCl a 12% em 5,6 mL de gel e água destilada, respectivamente.

Tanto as soluções como os géis foram agitados no vórtex por 1 minuto até a sua completa dissolução.

No primeiro poço de cada placa, encontrava-se 3 mL de BHI caldo contendo o microrganismo viável e foi adicionado 3 mL da substância química auxiliar teste. Nos demais poços, estavam presentes o meio de cultura e o agente de neutralização (tiosulfato de sódio 0,5%) da ação antimicrobiana da solução ou gel. Cada poço representava um tempo de avaliação. Após 15 segundos do contato da substância química auxiliar com os microrganismos (poço número 1), retirou-se 1 mL deste e adicionou-se ao poço 2, com o objetivo de verificar o efeito da substância química auxiliar teste neste período de tempo (15 segundos). Alíquotas de 1 mL do poço 1 foram retiradas após 30s, 1 min., 5 min, e 10 min., sendo aplicadas respectivamente nos poços 3, 4, 5 e 6. Portanto, utilizou-se apenas uma amostra para cada tempo. Duas placas foram utilizadas como controle, seguindo o mesmo procedimento, sendo uma para o gel e a outra para a água destilada. Após, todas as placas foram incubadas em estufa microbiológica, durante 24 horas, a 37°C com 10% de CO<sub>2</sub>.

Após o período de incubação, os resultados foram analisados conforme a presença ou ausência de turvação dos poços. Para verificar ainda a presença de microrganismos viáveis, alíquotas de 25µL de cada poço (turvos ou não) foram plaqueados em meio BHI Agar. As

placas (BHI Agar) foram incubadas em estufa microbiológica, durante 24 horas, a 37°C com 10% de CO<sub>2</sub>. Após o período de incubação, a ação antimicrobiana foi confirmada quando não houve crescimento bacteriano no BHI Agar.

### 3.3 pH DAS SOLUÇÕES E GÉIS

O pH das soluções e géis de hipoclorito de sódio foram avaliados em pHmetro digital (Digimed DM 21, São Paulo, SP, Brasil). Para a leitura dos valores de pH, as amostras foram fornecidas a um mesmo observador acondicionadas em frascos contendo números correspondentes a códigos que identificassem o grupo a que ela pertencia. O observador não obteve conhecimento do grupo ao qual ela fazia parte. Os códigos que identificavam cada amostra estiveram sob cuidado do pesquisador responsável.

#### **4 ANÁLISE DESCRITIVA**

Os dados obtidos foram tabulados e foi realizada uma análise descritiva dos mesmos.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 MÉTODO DE DILUIÇÃO EM CALDO

Os resultados obtidos através do método de diluição em caldo são mostrados na Tabela 1.

As soluções de hipoclorito de sódio a 0,5% em contato por até 30 segundos apresentaram turvação do meio, o que indica a falta de ação antimicrobiana. Por outro lado, em contato a partir de 1 minuto as soluções de hipoclorito de sódio a 0,5% não apresentaram turvação, confirmando a ação antimicrobiana das mesmas em 1, 5 e 10 minutos.

As demais soluções de hipoclorito de sódio (1%, 2,5% e 5,25%) não apresentaram turvação do meio em todos os tempos de agitação (15", 30", 1', 5' e 10'). Indicando ação antimicrobiana das mesmas em todos os tempos testados.

Entre as amostras de gel de hipoclorito de sódio 0,5%, apresentaram turvação aquelas que foram agitadas por 15", 30", 1' e 5'; mostrando que não houve inibição microbiana. Somente com 10 minutos de contato o gel a 0,5% observou-se o efeito bactericida e as demais amostras de gel (1%, 2,5% e 5,25%) também não apresentaram turvação do meio, mostrando um efeito bactericida em todos os tempos testados.

As amostras tidas como controle do estudo, tanto o gel como a água destilada, ambas sem hipoclorito de sódio, apresentaram turvação do meio entre todos os tempos de contato. Assim sendo, não mostraram ação antimicrobiana.

Na análise das placas de cultura em meio BHI Ágar, observou-se crescimento bacteriano apenas nas placas que foram semeadas alíquotas dos poços que apresentaram turvamento. Portanto, nos demais foi confirmado o efeito bactericida.

Tabela 1- Soluções e géis de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações e o tempo necessário para obtenção da ação antimicrobiana.

<b>GRUPOS</b>	<b>15''</b>	<b>30''</b>	<b>1'</b>	<b>5'</b>	<b>10'</b>
<b>Solução de hipoclorito de sódio 0,5%</b>	+	+	-	-	-
<b>Solução de hipoclorito de sódio 1%</b>	-	-	-	-	-
<b>Solução de hipoclorito de sódio 2,5%</b>	-	-	-	-	-
<b>Solução de hipoclorito de sódio 5,25%</b>	-	-	-	-	-
<b>Água</b>	+	+	+	+	+
<b>Gel</b>	+	+	+	+	+
<b>Gel de hipoclorito de sódio 0,5%</b>	+	+	+	+	-
<b>Gel de hipoclorito de sódio 1%</b>	-	-	-	-	-
<b>Gel de hipoclorito de sódio 2,5%</b>	-	-	-	-	-
<b>Gel de hipoclorito de sódio 5,25%</b>	-	-	-	-	-

Fonte : autor

Nota : (+) Presença de turvação do meio, ausência de ação antimicrobiana.

(-) Ausência de turvação do meio, presença de ação antimicrobiana.

## 5.2 pH DAS SOLUÇÕES E GÉIS DE HIPOCLORITO DE SÓDIO

Os resultados obtidos através da avaliação do pH das soluções e géis de hipoclorito de sódio são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 - pH das soluções e géis de hipoclorito de sódio

<b>GRUPOS</b>	<b>Concentração</b>	<b>pH</b>
<b>Solução</b>	0,5%	11,699
	1 %	12,140
	2,5%	12,262
	5,25%	12,568
<b>Gel</b>	0,5%	9,300
	1%	9,775
	2,5%	10,460
	5,25%	10,332
<b>Controle Gel</b>	10%	5,430
<b>Controle água destilada</b>		7,1

Fonte: autor

## 6 DISCUSSÃO

A eficácia da desinfecção dos canais radiculares também depende da vulnerabilidade das espécies envolvidas. Bactérias anaeróbicas, especialmente as bactérias gram negativas, têm sido associadas com infecções endodônticas. Porém, *Enterococcus faecalis*, do grupo das bactérias facultativas, também têm sido isoladas de canais radiculares e são consideradas as espécies mais resistentes (GOMES et al., 1996). Portanto, este estudo utilizou o *Enterococcus faecalis* como microrganismo de eleição. Assim como outros trabalhos, por exemplo os estudos de Gomes et al. (2001) e Souza et al. (2013).

O método de diluição em caldo que foi utilizado no presente estudo, se baseia em contato direto e próximo entre a substância teste e o meio de cultura com os microrganismos. Assim sendo, permite ao gel a às formulações condições de difusão mais favoráveis do que o método de difusão em ágar (GOMES; VIANNA, 2009).

O método de difusão em ágar é uma opção a ser utilizada em pesquisas de ação antimicrobiana, pois indica o potencial que as substâncias têm para eliminar microrganismos. No entanto, seus resultados dependem do tamanho molecular, solubilidade, difusão e sensibilidade da droga através do meio ágar. Além disso, seus resultados dependem tanto da espécie e número de bactérias inoculadas, quanto do pH dos substratos em placas, viscosidade do ágar, condições de armazenamento das placas de ágar, incubação, tempo e atividade metabólica dos microrganismos. Portanto, as zonas de inibição podem estar mais relacionadas à solubilidade e difusibilidade de materiais em ágar do que a sua real eficácia contra os microrganismos (GOMES et al. 2006).

O hipoclorito de sódio é um dos irrigantes mais populares por suas propriedades físico-químicas e antibacterianas e por ter a capacidade única de dissolver o tecido necrótico e os componentes orgânicos da smear layer (ZAND et al., 2010). Entretanto, pode causar algumas complicações com o uso inadequado. A complicação mais comum é a injeção acidental nos tecidos periapicais em dentes com forame apical imaturo ou quando a constrição apical foi destruída, durante o preparo do canal radicular ou por uma reabsorção (ZAND et al., 2010). Além disso, a pressão extrema, durante a irrigação, ou o contato da ponta da agulha de irrigação com o forame apical do canal radicular pode resultar em contato de grande volume do irrigante com os tecidos apicais (ZAND et al., 2010).

NaOCl é uma solução alcalina que apresenta um pH em torno de 11 a 12 e provoca lesões principalmente por oxidação de proteínas (ZAND et al., 2010). O hipoclorito de sódio causa hemólise, ulceração e inibição da migração de neutrófilos, que resulta em danos às

células endoteliais, fibroblastos, nervo facial, reação alérgica e necrose após a extrusão do irrigante, durante o tratamento endodôntico. (PONTES et al., 2008)

Uma das justificativas para a formulação de um agente irrigante mais viscoso seria o fato de poder empregar agentes químicos em maiores concentrações e com maior ação antimicrobiana, sem causar danos aos tecidos periapicais. De acordo com Chang et al. (2001), os agentes irrigantes usados em maiores concentrações apresentam maior capacidade de eliminar microrganismos, porém, tais drogas apresentam maiores riscos para os tecidos e células periradiculares.

Segundo Ferraz et al. (2001), a clorexidina tem sido amplamente utilizada em Odontologia devido ao seu largo espectro de atividade antimicrobiana e substantividade. Digluconato de clorexidina é formulado em solução aquosa ou em gel. (FERRAZ et al., 2001). Entretanto, não apresenta uma propriedade que é exclusiva do hipoclorito de sódio que é de dissolver o tecido necrótico.

Ferraz et al. (2001) avaliaram a capacidade de dissolução de tecidos pulpares bovinos de diferentes irrigantes endodônticos (soluções de hipoclorito de sódio e solução e gel de digluconato de clorexidina em diferentes concentrações). Tanto digluconato de clorexidina, quanto água destilada não foram hábeis para dissolver tecido pulpar. Entretanto, todas as soluções de hipoclorito de sódio provaram ser eficientes em dissolver tecido pulpar e a velocidade da dissolução variou proporcionalmente com a concentração de hipoclorito de sódio, a solução mais concentrada apresentou a mais rápida dissolução. Além disso, Ferraz et al. (2001) também constataram que o gel de clorexidina a 2% foi o único, não associado ao uso de ultrassom, que produziu uma parede dentinária com superfície limpa entre os irrigantes testados (gel de clorexidina 2%, clorexidina líquido 2%, solução de NaOCl 5,25%, água destilada e gel natrosol). As propriedades mecânicas do gel parecem ser o principal fator para esta diferença, pois o mesmo agente químico quando utilizado em apresentação líquida exibiu uma menor eficiência de limpeza. Esta seria mais uma justificativa para trabalhar com o NaOCl em forma de gel, pois além de ter sua capacidade exclusiva de dissolução dos tecidos orgânicos, ainda poderia potencializar sua ação limpeza e antimicrobiana diminuindo os riscos de extravasamento para os tecidos periapicais.

No presente estudo, observou-se que o NaOCl em concentrações baixas, como por exemplo o gel a 0,5% precisa de dez minutos para apresentar ação antimicrobiana, enquanto em concentrações de 1%, precisa de no máximo quinze segundos para ter o efeito. O mesmo aconteceu com as soluções de NaOCl. A solução a 0,5% precisou de um minuto para obter a



mesma ação que a solução a 1% apresentou em apenas quinze segundos de contato com *Enterococcus faecalis*. Esses resultados se aproximam com os de Gomes et al. (2001).

O estudo de Estrela et al. (2002b), teve como objetivo verificar a efetividade antimicrobiana, o valor do pH e o teor de cloro de soluções de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações e procedências. As soluções testadas foram NaOCl 0,5% (Dakin Sol, Maza), NaOCl 0,5% (Liq Dakin, Probem), NaOCl 0,5% (Liq Dakin, Biodinâmica), NaOCl 1% (Hi-color, Halex Star), NaOCl 1% (Milton Sol, Maza), NaOCl 1% (Liq Milton, Biodinâmica) e NaOCl 2% (Soda Clorada, Biodinâmica). As soluções comerciais Dakin Sol 0,5%, Hi-color Hale 1%, Milton sol 1% e soda clorada 2% apresentaram pH acima de 11. Os autores observaram que as soluções testadas mostraram efetividade após 3 minutos, nas concentrações de 1 e 2%. Enquanto que, nas concentrações de 0,5% a efetividade ocorreu após 5 minutos.

Por outro lado, no presente estudo tanto os géis quanto as soluções a 1 e 2% apresentaram ação antimicrobiana a partir de 15 segundos. As soluções a 0,5% tiveram ação antimicrobiana a partir de 1 minuto e os géis 0,5% precisaram de 5 minutos para apresentar o efeito.

A determinação do pH é importante e deve ser bem observada, uma vez que, a solução de hipoclorito de sódio com pH elevado, em torno de 11 a 12, é mais estável e a liberação de cloro é mais lenta. À medida que se reduz o pH da solução, quer por meio de ácido bórico ou por bicarbonato de sódio, a solução fica muito instável e a perda de cloro é mais rápida. A luz solar e a temperatura elevada provocam a liberação de cloro, deixando a solução ineficaz. (ESTRELA et al., 2002b)

Por sua vez, SASSONE et al., 2003, afirmam que o pH ideal para que uma solução de hipoclorito de sódio apresente estabilidade química é em torno de 9 a 11. No presente estudo, as formulações de hipoclorito em géis apresentaram o pH entre 9,3 e 10,46.

Vários estudos têm sido realizados em busca de um irrigante que reúna quatro grandes propriedades, ter atividade antimicrobiana, não ser tóxico para os tecidos periapicais, ser solúvel em água e apresentar a capacidade de dissolver tecidos orgânicos (Cheung; Stock, 1993). Torabinejad e Walton (2009) complementaram que além destas propriedades, a ação lubrificante é uma característica fundamental para um agente irrigante.

Mais estudos são necessários para avaliar outras propriedades do hipoclorito de sódio, além da ação antibacteriana.

## **7 CONCLUSÃO**

Diante dos resultados obtidos, concluiu-se que as soluções e géis de hipoclorito de sódio com concentrações entre 1 e 5,25% demonstram ação antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis* em períodos de 15 segundos a 10 minutos. Tanto as soluções quanto os géis de hipoclorito de sódio apresentam pHs alcalinos superiores a 9.

## REFERÊNCIAS

- BAKER, N.A. et al. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigation solutions. **Journal of Endodontics**, New York, v. 4, p. 127-135, 1975.
- BORIN, G.; BECKER, A. N.; OLIVEIRA, E. P. M. A história do Hipoclorito de Sódio e a sua importância como substância auxiliar no preparo químico mecânico de canais radiculares. **Revista de Endodontia Pesquisa e Ensino On Line**, Santa Maria, v. 3, n. 5, jan./jun. 2007.
- BUSSLINGER, A.; SENER, B.; BARBAKOW, F. Effects of sodium hypochlorite on nickel-titanium Lightspeed instruments. **International Endodontic Journal**, England, v. 31, p. 290-294, 1998.
- CHEUNG, G. S.; STOCK, C.J. In vitro cleaning ability of root canal irrigants with and without endosonics. **International Endodontic Journal**, England, v. 26, no. 6, p. 334-243, Nov, 1993.
- CHRISTENSEN, C. E. et al. Effect of Lowering the pH of Sodium Hypochlorite on Dissolving Tissue in Vitro. **Journal of Endodontics**, New York, v. 34, no. 4, p. 449-459, 2008.
- CHANG, Y.C. et al. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. **Oral surgery oral medicine oral pathology, oral radiology and endodontics**, St. Louis, v. 92, p. 446-450, 2001.
- ESTRELA, C.R.A. et al. Controlo f microorganisms in vitro by endodontic irrigants. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.14, no. 3, p.187-192, Mar. 2004.
- ESTRELA, C. R. A. et al. Estudo do efeito biológico do pH na atividade enzimática de bactérias anaeróbias. **Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru**, Bauru, v.2, p.29-36, 1994.
- ESTRELA, C.R.A. et al. Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Brazilian dental journal**, Ribeirão Preto, v.13, no. 2, p.113-117, 2002a.
- ESTRELA C.R.A. et al. Controle microbiano e químico de diferentes soluções de hipoclorito de sódio. **Robrac**, São Paulo, v. 11, n. 31, p. 16-21, 2002b.
- FERRAZ, C.C. et al. In Vitro Assessment of the Antimicrobial Action and the Mechanical Ability of Chlorhexidine Gel as an Endodontic Irrigant. **Journal of Endodontics**, New York, v. 27, no. 7, p. 452-455, July 2001.
- GERNHARDT, C.R.; EPPENDORF, K.; KOZLOWSKI, A. et al. Toxicity of concentrated sodium hypochlorite used as an endodontic irrigant. **International Endodontic Journal**, England, v.37, no. 4, p.272-280, 2004.

GOMES, B. P. et al. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **International Endodontic Journal**, England, v. 34, no. 6, p. 424-428, Set. 2001.

GOMES, B. P. F. A. et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. **Oral surgery oral medicine oral pathology, oral radiology and endodontics**, St. Louis, v. 102, p. 544-550, 2006.

GOMES B. P.F. A.; LILLEY, J.D.; DRUCKER, D.B. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. **International Endodontic Journal**, England, v. 29, p.235-241, 1996.

MEHRA, P.; CLANCY, C.; Wu, J. Formation of a facial hematoma during endodontic therapy. **The Journal of the American Dental Association**, Chicago, v. 131, no.1, p. 67-71, 2000.

NEAL, R.G.; CRAIRG, R.G.; POWERS, J.M. Effect of sterilization and irrigants on the cutting abilities of stainless steel files. **Journal of endodontics**, New York, v.9, no. 3, p. 93-96, 1983.

PECORA, J. D.; ESTRELA, C. Hipoclorito de Sódio. In: Carlos Estrela. (Org.). **Ciência Endodôntica**. 1 ed. São Paulo: Editora Arte Médicas Ltda., v. 1, p. 415-455, 2004.

PÉCORRA, J.D. et al. Verificação de teor de cloro ativo de diferentes marcas de líquido de Dakin encontrados no mercado. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 2, n. 1, p. 10-13, jan-mar, 1988.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E.C.S. **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo: McGraw-Hill Ltda, v.1 p.493-516, 1980.

PERDIGÃO, J. et al. Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. **Dental Materials**, v. 16, no. 5, p.311-323, nov.1999.

POGGIO, C. et al. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite-based irrigating solutions. **The International Journal of Artificial organs**, v.33, no. 9, p. 654-659, Jul. 2010.

PONTES, F. et al. Gingival and bone necrosis caused by accidental sodium hypochlorite injection instead of anaesthetic solution. **International Endodontic Journal**, England, v.41, no.3, p. 267-270, Mar, 2008.

SASSONE, L.M. et al. Atividade antimicrobiana de diferentes concentrações de NaOCl e clorexidina usando o teste por contato. **Brazilian Dental Journal**, v. 14, p. 99-102, 2003.

SOUZA, M. Effectiveness of intracanal dressing protocols on *Enterococcus faecalis* biofilm in a bovine tooth model-an in vitro study. 2013. 53 f. Tese (Doutorado em Endodontia)- Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SHABAHANG, S.; POURESMAIL, M.; TORABINEJAD, M. In vitro antimicrobial efficacy of MTAD and sodium hypochlorite. **Journal of Endodontics**, New York, v.29, p. 450-452, 2003.

SPRATT, D. A. et al. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. **International endodontic journal**, Oxford, v.34, nº4, p. 300-307, 2001.

STOJICIC et al. Tissue dissolution by sodium hypochlorite : effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. **Journal of Endodontics**, New York, v. 36, p. 1558-1562, 2010.

TANOMARU, J. M. G. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de soluções irrigadoras empregadas em endodontia. **Revista Paulista de Odontologia**, São Paulo, v.27, n.1, p. :38-40, jan.-mar. 2005.

TORABINEJAD, M.; WALTON, R.E. (4Ed.) **Endodontics. Principles and practice**, St. Louis, Mosby Elsevier 2009.

TUCKER, J.W.; MIZRAHI, S.; SELTZER, S. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigation solutions: urea, Tubulicid Red, and Tubulicid Blue. **Journal of Endodontics**, New York, v.2, p. 71-78, 1976.

VIANA, E.M. et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral sugery oral medicine oral pathology**, St. Louis, v. 97, p. 79-86, v. 97, jan. 2004.

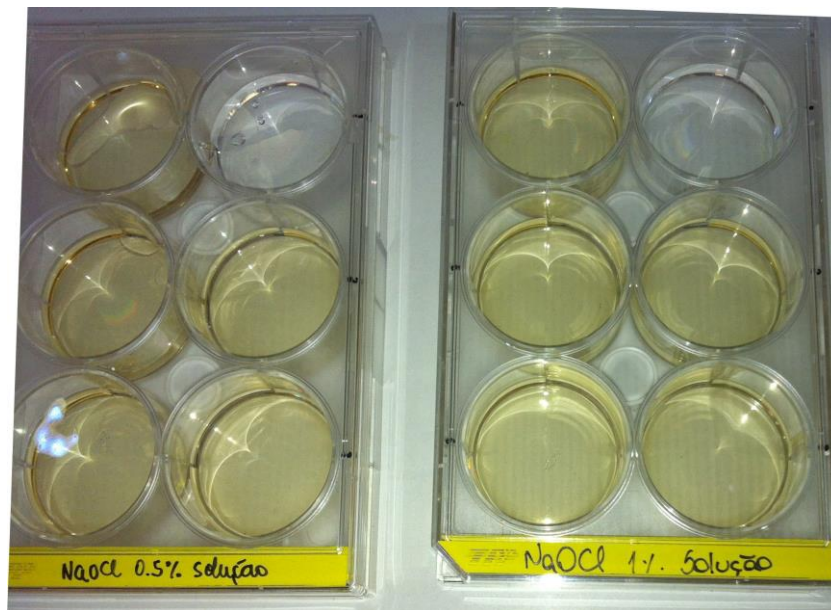
VIANA, M. E.; GOMES, B. P. F. A. Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in vitro. **Oral sugery oral medicine oral pathology, oral radiology and endodontics**, St. Louis, v.107, p. 585-89. Apr. 2009.

YESILSOY, C. et al. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. **Journal of Endodontics**, New York, v.21, p. 513-515, 1995.

ZAND, V. et al. A Comparative Scanning Electron Microscopic Investigation of the Smear Layer after the Use of Sodium Hypochlorite Gel and Solution Forms as Root Canal Irrigants. **Journal of Endodontics**, New York, v.36, p. 1234-1237, Jul 2010.

ZEHNDER, M. et al. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. **Oral sugery oral medicine oral pathology, oral radiology and endodontics**, St. Louis, v. 94, no. 6, p. 756-762, Dec. 2002.

ZEHNDER, M. Root canal irrigants. **Journal of Endodontics**, New York, v.32, p.389-398, 2006.

**APÊNDICE A – PLACAS COM MEIOS DE CULTURA PARA SOLUÇÃO DE NaOCl**

**APÊNDICE B - PLACAS COM MEIOS DE CULTURA PARA GEL DE NaOCl**



**APÊNDICE C – PLACAS COM MEIOS DE CULTURA PARA GRUPOS CONTROLE**