

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ORCELO VÍTOR DE SIQUEIRA CÉSAR

**Avaliação em Estudos Longitudinais da Eficácia do Hidróxido de
Cálcio sobre o *Enterococcus faecalis* detectado por Cultura ou
Reação em Cadeia da Polimerase – Revisão Sistemática**

**GOIÂNIA
2006**

ORCELO VÍTOR DE SIQUEIRA CÉSAR

**Avaliação em Estudos Longitudinais da Eficácia do Hidróxido de
Cálcio sobre o *Enterococcus faecalis* detectado por Cultura ou
Reação em Cadeia da Polimerase – Revisão Sistemática**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, para obtenção do título de Mestre em Biologia.

Área de concentração: Biologia Celular e Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Estrela

GOIÂNIA
2006

ORCELO VÍTOR DE SIQUEIRA CÉSAR

Avaliação em Estudos Longitudinais da Eficácia do Hidróxido de Cálcio sobre o *Enterococcus faecalis* detectado por Cultura ou Reação em Cadeia da Polimerase – Revisão Sistemática

Dissertação defendida no Curso de Mestrado em Biologia Celular e Molecular do Instituto de ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, para a obtenção do grau de Mestre, aprovada em 14 de Dezembro de 2006, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof. Dr. Carlos Estrela – FO-UFG
Presidente da Banca

Profa. Dra. Ana Helena Gonçalves de Alencar – FO-UFG

Profa. Dra. Fabiana Cristina Pimenta – IPTSP-UFG



PENSAMENTO

*“... vi o horizonte como uma linha curva.
Era acentuada por uma fina camada de
luz azul escura – a nossa atmosfera. Sem
dúvida, não era o oceano de ar de que me
havam falado tantas vezes na minha
vida. Fiquei aterrorizado com sua
aparência tão frágil.”*

Ulf Merbold, Astronauta Alemão (1998)



DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a minha amiga, companheira e esposa
Fernanda Rezende Coelho, por quem tenho profundo amor e carinho.
Obrigado por sempre ter me incentivado e contribuído, de maneira
efetiva na realização deste ideal. Sempre agradeço a Deus por ter lhe
conhecido.*



AGRADECIMENTOS

Minha gratidão e agradecimento especial,

Ao professor e orientador Carlos Estrela, pela dedicação à arte de ensinar, e pela confiança em mim depositada sem a qual não seria possível este desfecho.

A Cyntia Rodrigues Araújo Estrela, pela paciência, auxílio, amizade e acolhimento em sua casa, durante a realização deste trabalho.

Ao Professor Luiz Artur Mendes Bataus, pela coerência e dedicação na condução do curso de pós-graduação.

Aos Professores do Curso de Mestrado em Biologia Celular e Molecular do ICB-UFG, pelos ensinamentos que me passaram.

Aos colegas e amigos de turma, pela receptividade, convivência, compreensão e integração que tivemos.

Aos companheiros, Erlei Soares dos Santos, Daniel de Almeida Decurcio, Júlio Almeida Silva, Orlando Aguirre Guedes, Aleimar Moraes Toledo, Augusto César Braz de Holanda, pela convivência, coleguismo e tempo dedicado juntos, a ajuda de vocês foi fundamental.

Aos Cirurgiões Dentistas Ronnan Werneck Costa Rodrigues e Rogério Araújo Ferreira, amigos e companheiros, pelo apoio e ajuda durante esse tempo.

A meu pai João Lemes de Siqueira, e minha mãe Placidina Lemes Siqueira, por sempre apoiarem seu filho em todas as suas jornadas.

A Maria de Fátima Tinoco de Rezende pela inestimável ajuda.

Ao prof. Dr. Cláudio Rodrigues Leles pelo auxílio e especial atenção durante a realização deste trabalho. Aos Profs. Dra. Fabiana Cristina Pimenta, Dra. Ana Helena Gonçalves de Alencar, e Dr. Sicknan Soares Rocha, pela especial atenção, amizade e colaboração.



LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Critérios de Inclusão dos estudos analisados	36
Tabela 2.	Critérios de Exclusão dos estudos analisados	37
Tabela 3.	Estudos excluídos e razões para exclusão com análise em evidência científica	38
Tabela 4.	Estudos incluídos que permitiram a análise da eficácia do hidróxido de cálcio sobre o <i>Enterococcus faecalis</i> por cultura ou PCR	49
Tabela 5.	Distribuição de artigos científicos publicados em periódicos de maior impacto em endodontia, selecionadas de acordo com o modelo biológico <i>in vivo</i> e o método de identificação bacteriana (1966/2006) (Anexo 1).	105
Tabela 6.	Distribuição de artigos científicos publicados em periódicos de maior impacto em endodontia, selecionadas de acordo com o delineamento experimental <i>in vitro</i> (1966/2006)(Anexo 2).	106



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Delineamento do processo de distribuição dos artigos para revisão sistemática



RESUMO

Avaliou-se estudos longitudinais da eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *Enterococcus faecalis* identificado por cultura ou reação em cadeia da polimerase (PCR), através de revisão sistemática. Utilizou-se de fontes de catalogação bibliográfica identificadas eletronicamente por MEDLINE (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>), a partir de 1966 até 23 de novembro de 2006 e Cochrane Library, no mesmo período. Como estratégia de busca utilizou-se os termos – *Enterococcus faecalis and Calcium hydroxide* ou, *Enterococcus faecalis and Endodontic* – como palavras-chave em várias combinações. Os estudos foram selecionados por dois revisores, independentes, que, também, determinaram os critérios de inclusão e exclusão. A busca apresentou 178 artigos relacionados, sendo que destes, 5 artigos eram de revisão de literatura, 35 artigos relacionavam-se com estudos *in vivo* (humanos ou animais), e 138 incluíam estudos *in vitro*. Dos 35 estudos *in vivo* 3 estudos satisfizeram os critérios de inclusão, o que possibilitou a análise dos dados. Nestes estudos analisaram-se 134 dentes com infecção endodôntica secundária. Em 34 dentes o *E. faecalis* foi identificado inicialmente e, posterior à aplicação da medicação intracanal, esta bactéria foi observada em 3, 6 e 2 amostras, dos estudos incluídos. A heterogeneidade dos estudos não permitiu uma adequada combinação de resultados. Estudos *in vitro* mostraram a eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis*. Nos três estudos em humanos que satisfizeram os critérios de inclusão para análise de evidência científica, de um total de 94 dentes com infecções secundárias, em 34 dentes o *E. faecalis* foi detectado no início do tratamento e 11 permaneceram após o processo de sanificação e emprego da pasta de hidróxido de cálcio. Considerando a estimativa de êxito decorrente do sucesso clínico dos trabalhos analisados, verifica-se evidência da eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis*.

Unitermos: Hidróxido de Cálcio, *Enterococcus faecalis*, medicação intracanal, infecção endodôntica, revisão sistemática.



ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate longitudinal studies about the efficacy of calcium hydroxide on *Enterococcus faecalis* identified by culture or polymerase chain reaction (PCR), using a systematic review. A MEDLINE search strategy was developed to identify articles using the following uniterms: *Enterococcus faecalis* and Calcium hydroxide or, *Enterococcus faecalis* and Endodontic. The search included articles from the MEDLINE (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>), from 1966 to 23 of november of 2006. The articles electronically identified by the search were selected by two independent reviewers. The selected articles were examined for inclusion or exclusion based on several criteria. 178 articles were selected (5 articles of literature review, 35 articles about in vivo studies (human or animals) and 138 in vitro studies. Just 3 studies satisfied inclusion and exclusion criteria. In these studies, 134 teeth had secondary endodontic infection. In 34 teeth *E. faecalis* was identified initially and after the intracanal dressing in 3, 6 and 2 samples of the included studies. The heterogeneity of the studies did not permit the adequate combination of results. Studies in vitro showed the effectiveness of the hydroxide of calcium on the *E. faecalis*. In the three studies in humans that satisfied the inclusion criteria for analysis of scientific evidence, of a total of 94 teeth with secondary infections, in 34 teeth the *E. faecalis* was detected in the beginning of the treatment and 11 stayed after the disinfections process and use of paste of hydroxide of calcium. Considering the exiting estimative of clinical success of the analyzed studies, it could be observed evidence about the efficacy of calcium hydroxide on *E. faecalis*.

Uniterms: calcium hydroxide, *Enterococcus faecalis*, intracanal dressing, endodontic infection, systematic review

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	09
Lista de Figuras	11
Resumo	13
Abstract	15
1. Introdução e Retrospectiva da Literatura	18
2. Proposição	31
3. Material e Método	33
3.1. Estratégias de Estudo	34
3.2. Critérios de Inclusão e Exclusão dos Estudos Analisados	35
4. Resultados	47
5. Discussão	51
6. Conclusão	64
Referências Bibliográficas	66
Anexos	104



1. INTRODUÇÃO E RETROSPECTIVA DA LITERATURA

Os encontros científicos na atualidade têm enfatizado a adoção e a defesa de princípios científicos regidos por evidências, de tal sorte, que o referencial no momento privilegia uma odontologia baseada em evidência científica.

A execução de estudos destinados à observação de evidências envolve a revisão sistemática ou a meta-análise. A revisão sistemática apresenta como alvo estudos de elevada qualidade, dentro de uma abordagem sistemática, com cuidado de se evitar distorções científicas, pois influencia de forma contundente as tomadas de decisões. A meta-análise consiste em um modo de revisão sistemática que envolve combinação de resultados de diversos estudos, com vistas à estimativa única de resultados (SACKS *et al.*, 1987; PETITTI, 2000).

O requerimento para sua efetivação inclui estudos em humanos, que buscam investigar respostas a questionamentos clínicos, a partir de uma análise longitudinal crítica de artigos publicados. A resposta dentro de um contexto clínico aceitável pode ser formulada a partir de algumas questões que envolvem problema, intervenção, comparação e conclusão.

O centro de atenção para a aplicação e validação dos resultados dos estudos longitudinais, sob a ótica de uma análise baseada em evidência, distingue como essencial o entendimento de seu valor nos estudos selecionados para investigação. Este fato requer o conhecimento de estratégias a serem aplicadas para a seleção dos estudos a serem analisados.

Neste sentido, a literatura odontológica, realçando o cuidado com este modelo de investigação, apresenta vários estudos que foram desenvolvidos a partir de revisões sistemáticas (SACKS *et al.*, 1987; SIWEK, 1997; LELES *et al.*, 2000; PETITTI, 2000; HEYDECKE *et al.*, 2002; NIEDERMAN & THEODOSOPOULOU,

2003; LAW & MESSER, 2004; ESPOSITO *et al.*, 2005; GAPSKI *et al.*, 2005; NEVES *et al.*, 2006; CAMILLIERI & PITT FORD, 2006; NAITO *et al.*, 2006).

Neste momento, uma questão eminente na endodontia destaca as situações de difícil resolução clínica, cujo prognóstico mostra-se regular, o qual sinaliza para os fracassos do tratamento endodôntico. Assim, o ponto de partida para este estudo traz como problema o questionamento que envolve a eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *Enterococcus faecalis* presente nas infecções do canal radicular.

É do conhecimento endodôntico que o processo de sanificação constitui uma das mais relevantes preocupações dos pesquisadores contemporâneos. A infecção endodôntica tem sido alvo de intensa discussão. Este fato estimulou estudos destinados à identificação de diferentes espécies de microrganismos que colonizam o canal radicular e se apresentam como fatores condicionantes, considerados pré-requisitos para o desenvolvimento da patologia pulpar e periapical.

Estas alterações inflamatórias são influenciadas pelas características patogênicas e pelo número de microrganismos agressores, dotado de seus respectivos arsenais de virulência. A interação entre os microrganismos e a dinâmica resposta do hospedeiro determina os diferentes tipos de alterações inflamatórias.

Os microrganismos constituintes da microbiota de canais radiculares infectados somente puderam ser isolados e estudados posteriormente ao desenvolvimento de técnicas adequadas de coleta e para transporte, a cultura e isolamento dos diferentes tipos de microrganismos (MÖLLER, 1966; SUNDQVIST, 1976; DAHLÉN & HOFSTAD, 1977; BERGENHOLTZ, 1977; SUNDQVIST *et al.*, 1979; HAAPASALO, 1989; SUNDQVIST, 1992). Desta maneira, métodos para transporte capazes de manter viáveis os microrganismos oxigênio lábeis, meios de

cultura ricos em nutrientes e técnicas anaeróbias de manipulação e incubação do material passaram a ser valorizados e aplicados na área da endodontia. Assim, a partir dos clássicos trabalhos de Möller (1966) e Sundqvist (1976), ficou reconhecida a expressão dos microrganismos anaeróbios nas infecções endodônticas.

Sundqvist (1976) investigou a microbiota dos dentes necrosados em 32 dentes de origem de traumatismos dentários, sendo 19 dentes com lesão periapical de diâmetros variados (2 a 10mm). Microrganismos foram isolados em 18 dos 19 dentes com lesão periapical. Um total de 88 bactérias foram isoladas, sendo que, quanto maior a lesão periapical maior o número de microrganismos encontrados. Observou-se presença de dor periapical em 7 pacientes durante o tratamento, sendo isoladas 6 ou mais bactérias. Nos dentes com quadros agudos havia maior número de bactérias que nos outros casos. Na identificação, os autores verificaram os seguintes microrganismos: *Eubacterium alactolyticum*, *Propionibacterium acnes*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Campylobacter*, *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella parvulla*, *A. propionica*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Peptostreptococcus micros*. O *Bacteroides melaninogenicus* esteve presente em todos os casos em que houve processo agudo.

Com o objetivo de caracterizar a microbiota de dentes com lesões periapicais de acordo com as espécies e sua frequência, e analisar as associações entre bactérias, em outra investigação, Sundqvist (1992) avaliou amostras obtidas de 65 canais radiculares de dentes humanos uni-radiculares com polpa necrótica e lesão periapical. Em todos os canais foi observado crescimento bacteriano, com um total de 353 bactérias isoladas, sendo 90% anaeróbias. O *Fusobacterium nucleatum* foi a espécie mais frequentemente isolada (48%), seguido das espécies, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Eubacterium*

alactolyticum, *Eubacterium lentume* e *Wolinella recta*. Pode-se verificar mediante os resultados a presença de uma microbiota característica dentro do canal radicular, e no curso de uma infecção houve desenvolvimento de fortes inter-relações entre diferentes espécies microbianas e mudanças populacionais.

Gomes *et al.* (2004) investigaram a microbiota primária e secundária de canais infectados e a associação das espécies constituintes com sinais e sintomas endodônticos específicos. As amostras bacterianas foram retiradas de 60 canais radiculares, sendo 41 relacionados à infecção primária e 19 à infecção secundária. Técnicas anaeróbias estritas foram utilizadas para diluição sérica, incubação e identificação. Um total de 224 microrganismos foi recuperado, pertencente a 56 espécies bacterianas diferentes. Canais radiculares individuais apresentaram um máximo de 10 espécies bacterianas. Das bactérias isoladas, 70% eram tanto anaeróbias estritas quanto microaerófilas. As espécies anaeróbias mais frequentemente isoladas foram: *Peptostreptococcus micros* (35%), *Fusobacterium necrophorum* (23,3%), *Fusobacterium nucleatum* (11,7%), *Prevotella intermedia/nigrescens* (16,7%), *Porphyromonas gingivalis* (6,7%) e *Porphyromonas endodontalis* (5%). Encontrou-se uma microbiota mista para dentes não-tratados com periodontite apical, composta por Gram-positivos e Gram-negativos, na maioria anaeróbios e usualmente composta por mais de 3 espécies por canal. Por outro lado, anaeróbios facultativos e Gram-positivos predominaram em canais indicados para retratamento, com média de 1 a 2 espécies por canal radicular.

Em várias investigações, têm-se empregado diferentes técnicas de isolamento e identificação microbiana, como métodos de cultura, imunofluorescência, sonda de DNA (SUNDQVIST, 1976, 1992; ZAPPA *et al.*, 1990; FLEMMING *et al.*, 1995; WATANABE & FROMMEL, 1996). Entretanto, verifica-se

que muitos microrganismos de importância na endodontia não são cultiváveis ou são de difícil crescimento. A reação em cadeia da polimerase (PCR) apresenta-se como um método muito mais rápido e sensível para a identificação destes microrganismos, uma vez que uma pequena amostra é suficiente para a identificação, o que pode não ser possível através da cultura de microrganismos (SIQUEIRA & RÔÇAS, 2003). Considera-se que a técnica de PCR seja sensível o suficiente para detectar a presença de microrganismos em quantidade menor que 50 ufc (unidades formadoras de colônia). Dessa forma, a técnica do PCR parece ter vantagem pela não necessidade da presença viável dos microrganismos que estariam vinculados à condição de transporte das amostras (FRENCH *et al.*, 1986).

Neste sentido, Rôças *et al.* (2002) avaliaram a prevalência de 11 patógenos orais em canais radiculares associados à sintomatologia utilizando a técnica 16S rDNA PCR. As associações das espécies também foram estudadas. Os espécimes foram obtidos dos canais radiculares de 20 dentes sintomáticos. O DNA foi extraído dos espécimes, e analisaram-se as espécies bacterianas utilizando-se o PCR. Todos os espécimes apresentaram DNA bacteriano. Em geral, identificou-se *Treponema denticola* (50% dos casos), *Bacteroides forsythus* (40%), *Prevotella endodontalis* (40%), *Porphyromonas gingivalis* (30%), *C. rectus* (20%), *Peptostreptococcus micros* (20%), *Prevotella nigrescens* (10%) e *Streptococcus anginosus* (10%).

Outros estudos têm valorizado a técnica de PCR como alternativa importante no diagnóstico, tratamento e prevenção de várias patologias, como a cárie, doença periodontal, lesões endodônticas e câncer (SLOTS *et al.*, 1995; RÔÇAS *et al.*, 2001; MOLANDER *et al.*, 2002; FOUAD *et al.*, 2003; SIQUEIRA *et al.*, 2001, 2003; SANTOS *et al.*, 2004).

Vale ressaltar uma significativa preocupação na identificação dos microrganismos responsáveis pelas infecções endodônticas (MÖLLER, 1966; SUNDQVIST, 1976, 1992; MOLANDER *et al.*, 2002; SIQUEIRA *et al.*, 2003; GOMES *et al.*, 2004).

Outrossim, considera-se que a necessidade de se conhecer e destinar especial atenção às causas das enfermidades endodônticas, que uma vez eliminadas, favorecem o desaparecimento de suas conseqüências, determinadas pelo diagnóstico. Por conseguinte, entende-se que a infecção endodôntica primária é observada em dente não submetido a tratamento endodôntico, sendo caracterizada pela presença de uma microbiota endodôntica polimicrobiana, com prevalência de bactérias anaeróbias Gram-negativas. Na infecção endodôntica secundária, observa-se que os microrganismos resistiram ao primeiro tratamento endodôntico realizado, sendo prevalentes bactérias anaeróbias facultativas, Gram-positivas (MÖLLER, 1966; MOLANDER *et al.*, 1998; SUNDQVIST *et al.*, 1998; HANCOCK *et al.*, 2001).

Dentre as bactérias que têm sido objeto importante de estudo, particularmente as relacionadas aos fracassos do tratamento endodôntico, destaca-se o *E. faecalis* (MOLANDER *et al.*, 1998; SIRÉN *et al.*, 1997; SUNDQVIST *et al.*, 1998).

O *E. faecalis* tem sido encontrado em elevada prevalência especialmente nos fracassos endodônticos, constituindo aproximadamente um terço dos canais tratados com lesão persistente (MÖLLER, 1966; MOLANDER *et al.*, 1998; SUNDQVIST *et al.*, 1998; HANCOCK *et al.*, 2001). Este fato evidencia a dificuldade em eliminá-lo durante o tratamento endodôntico (SUNDQVIST *et al.*, 1998).

O *E. faecalis* parece ser resistente à medicação intracanal, especialmente ao hidróxido de cálcio empregado durante o tratamento endodôntico (STEVEN & GROSSMAN, 1983; BYSTRÖM *et al.*, 1985; HAAPASALO, 1990; SATO *et al.*, 1993; SIQUEIRA & UZEDA, 1996; TANRIVERDI *et al.*, 1997; WALTIMO *et al.*, 1999). Este questionamento tem merecido maiores discussões.

Steven & Grossman (1983) relataram que o hidróxido de cálcio foi menos efetivo que o clorofenol canforado em eliminar o *E. faecalis*, em canais radiculares infectados de gatos. O *E. faecalis* mostrou alto nível de resistência ao efeito bactericida do hidróxido de cálcio. O *E. faecalis* foi restabelecido somente de 1 desses casos.

Byström *et al.* (1985) analisaram clinicamente a eficácia antibacteriana do hidróxido de cálcio, fenol canforado e paramonoclorofenol canforado como curativo intracanal em 65 dentes com lesão periapical. No grupo em que se utilizou o hidróxido de cálcio, após o tratamento, as bactérias foram restabelecidas de um dos 35 canais radiculares tratados. No grupo do fenol canforado ou paramonoclorofenol canforado, as bactérias foram restabelecidas de 10 dos 30 canais radiculares tratados. As bactérias isoladas eram predominantemente Gram-positivas e anaeróbias. A sensibilidade das bactérias à suspensão de hidróxido de cálcio variou. A maioria das bactérias foi morta em menos de 1 minuto sendo que as resistentes pertenciam à espécie de *E. faecalis*. A eliminação do *E. faecalis* foi dependente do pH e das células sobreviventes no pH 11,5, mas não no pH 12,5.

As composições da microbiota endodôntica em casos que respondem bem à terapia endodôntica, e aqueles casos em que persiste a periodontite apical, têm sido associadas à presença de enterobactérias no interior do canal infectado ou àquelas que entraram no canal durante o tratamento, em função do inadequado

isolamento da área, infiltração marginal ou canal deixado aberto para a drenagem (MOLANDER *et al.*, 1998).

Sundqvist *et al.* (1998) determinaram a microbiota endodôntica posterior ao insucesso do tratamento endodôntico em 54 dentes selecionados para retratamento. Todos os dentes apresentavam-se assintomáticos, previamente tratados, e com evidências radiográficas de lesão óssea periapical. Os dentes apresentavam história de tratamento endodôntico de 4 a 5 anos atrás. Uma amostra bacteriológica inicial foi coletada do canal por meio de coleta com pontas de papel. Decorridos 7 dias, amostras bacteriológicas foram coletadas, os canais foram instrumentados com limas manuais e irrigados com solução de hipoclorito de sódio a 0,5%. Depois da irrigação final, os canais foram preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio e a seguir realizou-se o selamento coronário. Na terceira consulta, 7 a 14 dias depois, o curativo foi removido e coletou-se uma amostra pós-medicação. A seguir, os canais foram obturados com guta-percha por meio da técnica da condensação lateral. Nos 9 casos em que *E. faecalis* foi isolado, este foi o único microrganismo presente no canal. Cinquenta dos 54 casos tratados (93%) estavam disponíveis para retorno. Trinta e sete das lesões foram completamente reparadas e 13 casos apresentaram-se como insucessos - um índice de sucesso de 74%. O índice de sucesso para os dentes nos quais *E. faecalis* foi isolado depois da remoção da obturação prévia, foi menor (66%) que a média para todo o material. Em amostras tiradas no momento da obturação, microrganismos foram recuperados em 6 canais. Quatro das lesões associadas com esses dentes não repararam, sendo que 3 desses dentes continham bactérias da espécie *E. faecalis* e o quarto canal abrigava *A. israelii*. Nos 2 dentes em que houve reparo da lesão periapical, o *E. faecalis* foi isolado no momento da obturação. Dos dentes com microrganismos não

recuperáveis no momento da obturação, 35 de 44 dentes repararam – um índice de sucesso de 80%. Dos 50 casos que puderam ser acompanhados, a maioria (37) foi obturado entre 0,5 a 2 mm aquém do ápice radiográfico. Outros 9 foram obturados até o nível do ápice, e 4 tinham excesso de obturação com menos de 1 mm.

Desta forma, parece oportuno buscar os mecanismos para tentar explicar o potencial de resistência do *E. faecalis*. Love (2001) analisou o provável mecanismo que permitisse explicar de que forma o *E. faecalis* pode sobreviver e multiplicar dentro dos túbulos dentinários e reinfestar um canal radicular obturado. Células de *S. gordonii*, *S. mutans* e *E. faecalis* foram cultivadas por 56 dias contendo vários valores de soro humano. Os resultados evidenciaram que todas as três espécies se mantiveram viáveis além do período dos experimentos quando cultivadas em soro humano. Células de todas as três bactérias foram capazes de invadir a dentina e se unir para imobilizar o colágeno. O soro humano inibiu a invasão dentinária e a adesão do colágeno pelo *S. gordonii* e *S. mutans*, enquanto a invasão dentinária por *E. faecalis* foi reduzida na presença de soro, mas não inibida, e a união ao colágeno foi intensificada. O fator de virulência do *E. faecalis* no fracasso de dentes tratados endodonticamente pode estar relacionado à habilidade das células do *E. faecalis* manterem a capacidade para invadir os túbulos dentinários e aderir ao colágeno na presença de soro humano.

Outro importante estudo sobre o mecanismo envolvido na resistência do *E. faecalis* ao hidróxido de cálcio foi realizado por Evans *et al.* (2002). O estudo desses autores confirmou que o *E. faecalis* é resistente ao hidróxido de cálcio em pH igual ou inferior a 11,1. Uma resposta adaptativa ao pH alcalino e a síntese de proteínas induzidas por *stress* parecem ter um papel menor na sobrevivência celular, enquanto o funcionamento da bomba de prótons, que tem a capacidade de acidificar

o citoplasma, mostrou-se crítico à sobrevivência dessas bactérias em meios de elevado pH. O hipoclorito de sódio mostrou-se eficaz para eliminar o *E. faecalis*.

Admite-se com base em vários estudos que o *E. faecalis* tem mostrado uma capacidade de resistir um ambiente alcalino e condições críticas (STEVEN & GROSSMAN, 1983; BYSTRÖM *et al.*, 1985; MOLANDER *et al.*, 1998; LOVE, 2001; EVANS *et al.*, 2003). Os enterococos apresentam diversos fatores de virulência, que favorecem a aderência às células do hospedeiro e matrizes extracelulares, o que facilita a invasão ao tecido. Incluem, entre estas, as substâncias de agregação, proteínas de superfície (ESP), gelatinase, toxina citolisina, produção superóxido, cápsulas polissacarídeas (PORTENIER *et al.*, 2003).

Igualmente, a identificação e o conhecimento das características dos microrganismos predominantes em canais radiculares infectados representam fator essencial na seleção de um processo de controle microbiano.

É essencial entender que o controle microbiano do canal radicular é delegado à sanificação proporcionada pela fase do preparo do canal radicular. Embora expressiva redução de microrganismos tenha sido observada após a conclusão da limpeza e da modelagem, várias pesquisas demonstraram a necessidade da medicação intracanal entre sessões, com o objetivo de potencializar o processo de sanificação do sistema de túbulos dentinários (BYSTRÖM *et al.*, 1985; MOLANDER *et al.*, 1998; SUNDQVIST *et al.*, 1998; TROPE *et al.*, 1999; KATEBZADEH *et al.*, 1999; HOLLAND *et al.*, 2003; KVIST *et al.*, 2004).

Outrossim, merece oportunidade neste momento destacar algumas características do hidróxido de cálcio, uma vez que representa a substância mais indicada para o controle microbiano entre sessões. A literatura é rica em estudos envolvendo o hidróxido de cálcio como medicação intracanal (BYSTRÖM *et al.*,

1985; SUNDQVIST *et al.*, 1998; TROPE *et al.*, 1999; KATEBZADEH *et al.*, 1999; HOLLAND *et al.*, 2003 a,b; KVIST *et al.*, 2004).

Contudo, parece oportuno direcionar a atenção às características primordiais deste fármaco ao questionamento em vigência. Nesta lógica de raciocínio, podem-se agrupar algumas qualidades importantes do hidróxido de cálcio, como descritas em recente retrospectiva da literatura (ESTRELA & HOLLAND, 2003). As principais características do hidróxido de cálcio se desenvolvem a partir da dissociação em íons cálcio e hidroxila. A ação desses íons nos tecidos e nas bactérias explica as características biológicas e antimicrobianas dessa substância, que se manifestam a partir de ações enzimáticas, tanto sobre as bactérias como sobre os tecidos. Alguns aspectos importantes de sua ação podem ser agrupados: a) A dentina é considerada a melhor proteção pulpar, e o hidróxido de cálcio provou, através de numerosos estudos, sua capacidade de induzir a formação de barreira mineralizada sobre o tecido pulpar; b) É necessário, sempre que possível, dar tempo à pasta de hidróxido de cálcio para manifestar seu potencial de ação sobre os microrganismos presentes nas infecções endodônticas. A manutenção de alta concentração de íons hidroxila pode alterar a atividade enzimática bacteriana e promover sua inativação; c) O sítio de ação dos íons hidroxila e cálcio incluem as enzimas presentes na membrana citoplasmática. Esta medicação tem um largo espectro de ação, independentemente da capacidade metabólica dos microrganismos. As membranas citoplasmáticas são similares, independentemente das características morfológicas, tintoriais e respiratórias dos microrganismos, o que significa que essa medicação atua de forma similar sobre bactérias aeróbias, anaeróbias, Gram-positivas e Gram-negativas; d) O hidróxido de

cálcio como medicação intracanal, entre sessões, promove melhores resultados no processo de reparação periapical do que o tratamento em sessão única.

Para contextualizar a discussão que privilegia a busca de soluções para o expressivo problema, esta investigação destina-se a analisar estudos longitudinais que envolvem a eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis* nas infecções endodônticas.



2. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho é avaliar estudos longitudinais da eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *Enterococcus faecalis* identificado por meio de cultura ou reação em cadeia da polimerase, por meio de revisão sistemática.



3. MATERIAL E MÉTODO

A estratégia adotada para o desenvolvimento deste estudo levou em consideração o conhecimento de protocolo de estudos clínicos baseado em evidência previamente publicados, bem como os níveis de evidências, os aspectos favoráveis e as limitações de revisões sistemáticas e meta-análises (GREENHALGH, 2001; GLASZIOU, 2001; SIWEK *et al.*, 2002; MCINTOSH *et al.*, 2004; GIANNOTTI, 2004; LYMAN & KUDERER, 2005).

3.1. Estratégia de Estudo

Este trabalho foi desenvolvido valendo-se de uma análise de estudos longitudinais a partir de uma revisão sistemática quantitativa de resultados de várias investigações. Foram selecionados, assim, estudos prospectivos frente à eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis* presente em infecções endodônticas, identificado por cultura ou por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR). Para tanto, utilizou-se de fontes de catalogação bibliográfica identificados eletronicamente por MEDLINE (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>), a partir de 1966 até 23 de novembro de 2006 e Cochrane Library, no mesmo período. Para a estratégia de busca utilizou-se dos seguintes termos como palavras-chave em várias combinações:

1. *Enterococcus faecalis, faecalis and Calcium hydroxide or*
2. *Enterococcus faecalis, faecalis and Endodontic*

Os artigos selecionados foram identificados a partir dos títulos e resumos, levando-se em consideração os critérios de inclusão tabulados, independentemente por dois revisores. Os artigos completos foram selecionados pelos mesmos revisores valendo-se dos mesmos critérios.

3.2. Critérios de Inclusão e Exclusão dos Estudos Analisados

Dois revisores examinaram todos os estudos selecionados e determinaram os critérios de inclusão e exclusão, conforme as Tabela 1 e 2. A Tabela 3 evidencia os estudos excluídos com análise em evidência científica, bem como as razões para a rejeição.

Em seqüência, para cada estudo selecionado, individualmente, foram calculados os números de amostras, tabulados os dados sobre a época do tratamento endodôntico inicial, o tipo de canal radicular envolvido na pesquisa, o método de identificação da bactéria, a presença do *E. faecalis* nas amostras, as substâncias medicamentosas utilizadas durante o processo de sanificação, o tempo de manutenção da medicação intracanal anterior à obturação e a eficácia do hidróxido de cálcio sobre a bactéria em discussão. A avaliação destes fatores combinados proporcionou um novo conjunto associado de dados, o que incluiu todas as amostras selecionadas. Nos três estudos em que houve condições de agrupamento, verificou-se um total de 34 amostras.

Tabela 1 - Critérios de inclusão dos estudos analisados

-
1. Estudos *in vivo*
 2. Desenvolvidos em humanos
 3. Prospectivos
 4. Experimental e grupo controle
 5. Relacionados à eficácia do hidróxido de cálcio frente ao *E. faecalis*
 6. Emprego da técnica de cultura ou PCR na detecção bacteriana
 7. Estudos publicados em idioma Inglês
-

Tabela 2 – Critérios de exclusão dos estudos analisados

-
1. Estudos *in vitro*
 2. Desenvolvidos em animais
 3. Relacionados à eficácia de diferentes medicações intracanaís ou outros materiais
 4. Emprego de outras técnicas de detecção microbiana (exceto cultura ou PCR)
 5. Trabalhos com ausência de resumo
 6. Estudo em idioma de origem não inglesa
 7. Trabalhos somente de identificação bacteriana
 8. Trabalhos de revisão de literatura
 9. Trabalhos envolvendo dentes decíduos
-

Tabela 3 – Estudos excluídos e razões para exclusão com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Razões para exclusão
1.	Spångberg <i>et al.</i> (1973)	1, 5
2.	Lan (1977)	1, 3
3.	Lan (1978)	1, 3
4.	Parsons <i>et al.</i> (1980)	1, 3
5.	Thomas <i>et al.</i> (1980)	1, 3
6.	Stevens & Grossman (1983)	5
7.	Melo <i>et al.</i> (1984)	5, 6
8.	Haapasalo & Ørstavik (1987)	1
9.	Allard <i>et al.</i> (1987)	2, 5
10.	Sperança <i>et al.</i> (1988)	5, 6
11.	Ørstavik & Haapasalo (1990)	1
12.	Pavelic <i>et al.</i> (1991)	1, 6
13.	Heling <i>et al.</i> (1992)	1
14.	Drucker <i>et al.</i> (1992)	7
15.	Barbosa <i>et al.</i> (1994)	1
16.	Chandler & Heling (1995)	1, 3
17.	Heling & Chandler (1996)	1, 3
18.	Siqueira-Jr & Uzeda (1996)	1
19.	Weiss <i>et al.</i> (1996)	1, 3
20.	Siqueira-Jr <i>et al.</i> (1996)	1, 4, 7

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos e razões para exclusão com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Razões para exclusão
21.	Pabla <i>et al.</i> (1997)	1, 3
22.	Tanriverdi <i>et al.</i> (1997)	1
23.	Fuss <i>et al.</i> (1997)	1, 3
24.	Shalhav <i>et al.</i> (1997)	1, 3
25.	Siren <i>et al.</i> (1997)	7
26.	Ramskold <i>et al.</i> (1997)	1, 3
27.	Siqueira-Jr <i>et al.</i> (1998)	1, 3
28.	Heling & Chandler (1998)	1, 3, 4
29.	Siqueira-Jr & Uzeda (1998)	1
30.	Estrela <i>et al.</i> (1999)	1
31.	Waltimo <i>et al.</i> (1999)	1
32.	Molander <i>et al.</i> (1999)	3
33.	Ayhan <i>et al.</i> (1999)	1, 3
34.	Lenet <i>et al.</i> (2000)	1, 3
35.	Estrela <i>et al.</i> (2000)	1
36.	Leonardo <i>et al.</i> (2000)	1
37.	Gutknecht <i>et al.</i> (2000)	1, 3
38.	Haapasalo <i>et al.</i> (2000)	1
39.	Fuss <i>et al.</i> (2000)	1, 3
40.	Podbielski <i>et al.</i> (2000)	1, 3

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos e razões para exclusão com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Razões para exclusão
41.	Siqueira-Jr <i>et al.</i> (2000)	1, 3
42.	Siqueira-Jr <i>et al.</i> (2000)	1, 3
43.	Dahlén <i>et al.</i> (2000)	1, 3
44.	Huang <i>et al.</i> (2000)	1, 3
45.	Portenier <i>et al.</i> (2001)	1
46.	Behnen <i>et al.</i> (2001)	1
47.	Estrela <i>et al.</i> (2001)	1
48.	Roach <i>et al.</i> (2001)	1
49.	Timpawat <i>et al.</i> (2001)	1, 3
50.	Han <i>et al.</i> (2001)	1
51.	Estrela <i>et al.</i> (2001)	1
52.	Marais & Willians (2001)	1, 3
53.	Lima <i>et al.</i> (2001)	1, 3
54.	Gomes <i>et al.</i> (2001)	1, 3
55.	Ferraz <i>et al.</i> (2001)	1, 3
56.	Buck <i>et al.</i> (2001)	1, 3
57.	Assouline <i>et al.</i> (2001)	1, 3
58.	Love (2001)	1
59.	Hancock <i>et al.</i> (2001)	7
60.	Gomes <i>et al.</i> (2002)	1

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos e razões para exclusão com análise em evidência científica

Estudos excluídos		Razões para exclusão
61.	Fuss <i>et al.</i> (2002)	1
62.	Distel <i>et al.</i> (2002)	1, 4
63.	Basrani <i>et al.</i> (2002)	1
64.	Al-Nazhan <i>et al.</i> (2002)	1
65.	Evans <i>et al.</i> (2002)	1
66.	Weiger <i>et al.</i> (2002)	1
67.	Sukawat & Srisuwan (2002)	1, 4
68.	Love (2002)	8
69.	Almyroudi <i>et al.</i> (2002)	1
70.	Molander & Dahlén (2003)	3
71.	Basrani <i>et al.</i> (2003)	1
72.	Zehnder <i>et al.</i> (2003)	1
73.	Evans <i>et al.</i> (2003)	1
74.	Mickel <i>et al.</i> (2003)	1
75.	Lynne <i>et al.</i> (2003)	1
76.	Haenni <i>et al.</i> (2003)	1
77.	Estrela <i>et al.</i> (2003)	1
78.	Fleming & Dermody (2003)	8
79.	Lin <i>et al.</i> (2003)	1
80.	Shur <i>et al.</i> (2003)	1, 3

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos e razões para exclusão com análise em evidência científica

	Estudos excluídos	Razões para exclusão
81.	Figdor <i>et al.</i> (2003)	1
82.	Podbielski <i>et al.</i> (2003)	1
83.	Gomes <i>et al.</i> (2003)	1
84.	Mickel <i>et al.</i> (2003)	1, 3
85.	Pinheiro <i>et al.</i> (2003)	7
86.	Pinheiro <i>et al.</i> (2003)	7
87.	Nakajo <i>et al.</i> (2004)	7
88.	Turner <i>et al.</i> (2004)	1
89.	Menezes <i>et al.</i> (2004)	1
90.	Lui <i>et al.</i> (2004)	1, 3
91.	Cobankara <i>et al.</i> (2004)	1, 3
92.	Lee <i>et al.</i> (2004)	8
93.	Amorim <i>et al.</i> (2004)	1, 3
94.	Rôças <i>et al.</i> (2004)	7
95.	Nagayoshi <i>et al.</i> (2004)	1, 3
96.	Pinheiro <i>et al.</i> (2004)	1, 3
97.	Kayaoglu & Ørstavik (2004)	8
98.	Shon <i>et al.</i> (2004)	1
99.	Baker <i>et al.</i> (2004)	1
100.	Evanov <i>et al.</i> (2004)	1

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos e razões para exclusão com análise em evidência científica

Estudos excluídos	Razões para exclusão
101. Paisano <i>et al.</i> (2004)	1, 3
102. Gomes <i>et al.</i> (2004)	1, 3
103. Sirén <i>et al.</i> (2004)	1
104. Rôças <i>et al.</i> (2004)	7
105. Radcliffe <i>et al.</i> (2004)	1, 3
106. Möller <i>et al.</i> (2004)	2
107. Gutknecht <i>et al.</i> (2004)	1, 3
108. Figdor (2004)	5
109. Rôças <i>et al.</i> (2004)	7
110. Zehnder <i>et al.</i> (2004)	1
111. Lee <i>et al.</i> (2004)	1
112. Baumgartner <i>et al.</i> (2004)	7
113. Saleh <i>et al.</i> (2004)	1, 3
114. Sedgley <i>et al.</i> (2004)	3, 7
115. Gomes <i>et al.</i> (2004)	7
116. Barroso <i>et al.</i> (2004)	1, 3
117. Siqueira-Jr & Roças (2004)	7
118. Vianna <i>et al.</i> (2004)	1, 3
119. Bozza <i>et al.</i> (2005)	1, 3
120. Vivacqua-Gomes <i>et al.</i> (2005)	1

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos e razões para exclusão com análise em evidência científica

Estudos excluídos	Razões para exclusão
121. Kayaoglu <i>et al.</i> (2005)	1, 3
122. Lin <i>et al.</i> (2005)	1
123. Schafer & Bossmann (2005)	1
124. Cwikla <i>et al.</i> (2005)	1
125. Abdullah <i>et al.</i> (2005)	1
126. Pereira <i>et al.</i> (2005)	1, 3
127. Vianna <i>et al.</i> (2005)	1
128. Zehnder <i>et al.</i> (2005)	1, 3
129. Zbidi <i>et al.</i> (2005)	6, 7
130. Eddy <i>et al.</i> (2005)	1, 3
131. Reynaud <i>et al.</i> (2005)	1
132. Foschi <i>et al.</i> (2005)	7
133. Sipert <i>et al.</i> (2005)	1, 3
134. Michalesco <i>et al.</i> (2005)	1
135. Fouad & Barry (2005)	1
136. Kayaoglu <i>et al.</i> (2005)	1
137. Ferrari <i>et al.</i> (2005)	3, 9
138. Fouad <i>et al.</i> (2005)	7
139. Dametto <i>et al.</i> (2005)	1, 3
140. Portenier <i>et al.</i> (2005)	1

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos e razões para exclusão com análise em evidência científica

Estudos excluídos	Razões para exclusão
141. Sedgley <i>et al.</i> (2005)	7
142. Sedgley <i>et al.</i> (2005)	7
143. Pizzo <i>et al.</i> (2006)	1, 3
144. Zehnder <i>et al.</i> (2006)	1
145. Oncaag <i>et al.</i> (2006)	1, 3
146. Gomes <i>et al.</i> (2006)	1
147. Nakajo <i>et al.</i> (2006)	1
148. Oztan <i>et al.</i> (2006)	1, 3
149. Ercan <i>et al.</i> (2006)	1
150. Lin <i>et al.</i> (2006)	1, 6
151. Oncaag <i>et al.</i> (2006)	9
152. Fouad (2006)	1
153. Sena <i>et al.</i> (2006)	1, 3
154. Garcez <i>et al.</i> (2006)	1, 3
155. Shurrab <i>et al.</i> (2006)	3
156. Fabricius <i>et al.</i> (2006)	2, 3
157. Soukos <i>et al.</i> (2006)	1, 3
158. Johnson <i>et al.</i> (2006).	2
159. Brodumlu & Semiz (2006)	1, 3
160. Gomes <i>et al.</i> (2006)	7

(continuação)

Tabela 3 – Estudos excluídos e razões para exclusão com análise em evidência científica

Estudos excluídos	Razões para exclusão
161. Zoletti <i>et al.</i> (2006)	7
162. Willians <i>et al.</i> (2006)	7
163. Rossi-Fedele <i>et al.</i> (2006)	3, 7
164. Kolzet (2006)	5
165. Bergmans <i>et al.</i> (2006)	1, 3
166. Dunavant <i>et al.</i> (2006)	1, 3
167. Schoop <i>et al.</i> (2006)	1, 3
168. Reynaud <i>et al.</i> (2006)	3, 7
169. Pinheiro <i>et al.</i> (2006)	7
170. Sedgley <i>et al.</i> (2006)	7
171. Jha <i>et al.</i> (2006)	1, 3
172. Kishen <i>et al.</i> (2006)	1, 4
173. Melker <i>et al.</i> (2006)	1, 3
174. Sedgley <i>et al.</i> (2006)	7
175. Stuart <i>et al.</i> (2006)	8



4. RESULTADOS

A Tabela 4 exhibe os estudos incluídos que permitiram a análise da eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis* em infecções endodônticas, identificado por cultura ou PCR. Assim, alguns aspectos importantes do estudo foram considerados, entre os quais incluem: o modelo de estudo e o tamanho da amostra, o tempo decorrido do tratamento endodôntico inicial até o presente momento, o número de canais radiculares por dente envolvidos na pesquisa, o método de identificação da bactéria, a presença do *E. faecalis* nas amostras iniciais, as substâncias medicamentosas utilizadas durante o processo de sanificação, o tempo de manutenção da medicação intracanal anterior à obturação e a presença do *E. faecalis* posterior ao emprego da pasta de hidróxido de cálcio sobre a bactéria em questão.

A Tabela 5 (Anexo 1) apresenta a distribuição de artigos científicos publicados em função de revistas de maior impacto em endodontia, selecionados de acordo com o modelo biológico e o método de identificação bacteriana (1966/2006). A Tabela 6 (Anexo 2) evidencia a distribuição de artigos científicos publicados em função de revistas de maior impacto em endodontia, selecionados de acordo com o delineamento experimental *in vitro* (1966/2006). A Figura 1 exemplifica o delineamento do processo de distribuição dos artigos para a revisão sistemática.

Tabela 4 – Estudos incluídos que permitiram a análise da eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *Enterococcus faecalis* por cultura ou PCR

Referência	N	TEi	Dente	Técnica	Ef inicial	PS	Med	Ef final
Sundqvist <i>et al.</i> (1998)	54 G1 54 HC	4-5 anos	49 uni 5 bi	cultura	9	HS 0,5% + HC	7-14 dias	3
Peculiene <i>et al.</i> (2001)	40 G1 20 HC G2 20 IKI	5-10 anos	40 uni	cultura	21	HS 2,5% + HC	10-14 dias	2
Zerella <i>et al.</i> (2005)	40 G1 20 HC G2 20 CLX	DNI	40 uni	cultura e PCR	4	HS 1,0% + HC	7-10 dias	2

Legenda:

n - número de amostras
 TEi – tratamento endodôntico inicial
 Dente – unirradicular / birradicular
 DNI - dados não identificados
 Técnica – meio de identificação -
 Ef inicial – número de amostras iniciais com *E. faecalis*
 PS – processo de sanificação (HS - hipoclorito de sódio / HC - hidróxido de cálcio)
 Med – tempo de manutenção da medicação intracanal
 IKI - solução iodo iodeto de potássio
 Ef final – número de amostras finais com *E. faecalis*

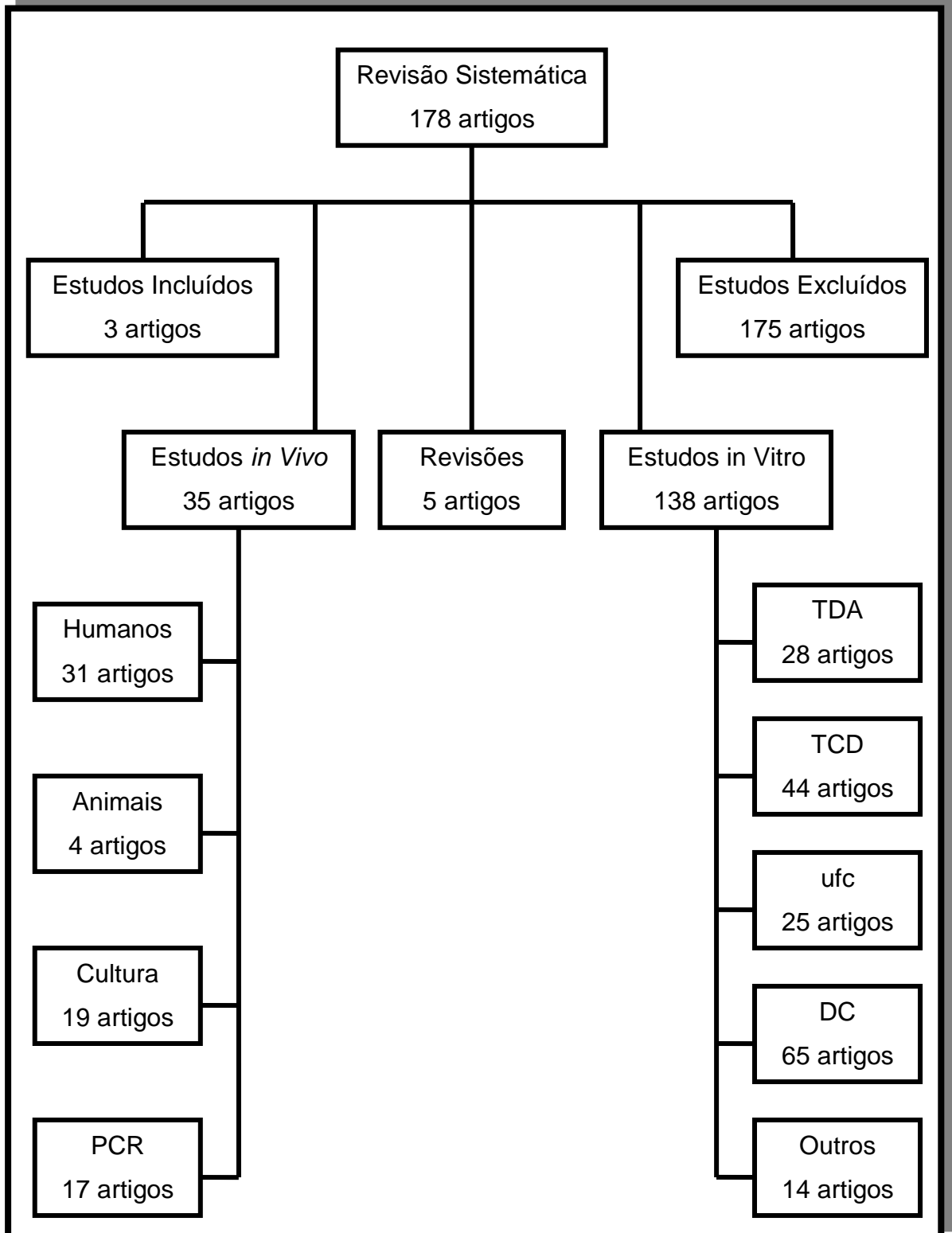


Figura 1 - Distribuição dos artigos para a revisão sistemática.

Legenda:

TDA -	Teste de difusão em Agar
TCD -	Teste por contato direto
UFC -	Unidade formadora de colônia
DC -	Dentina contaminada



5. DISCUSSÃO

A resposta ao eloqüente inquérito à busca de evidências científicas que confirmem o freqüente questionamento quanto à eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis* envolve profunda reflexão e discussão, que dentro da limitação do método, os estudos longitudinais analisados parecem sinalizar uma solução.

O ponto de partida foi valorizado pela relevância do problema em decorrência de necessidades de se solucionar um questionamento importante e abrangente, vinculado às tomadas de decisões no âmbito clínico. Existem evidências da eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis* em infecções endodônticas? Esta pergunta representou o exímio referencial para a estruturação do delineamento do estudo.

Cabe neste contexto discutir a estratégia de estudo utilizada e os motivos que a justificaram. Portanto, dois aspectos devem ser bem enfocados, a discussão da metodologia utilizada, seguido da análise dos resultados alcançados.

Assim, os resultados controversos de vários trabalhos científicos, em face do crescente número de publicações odontológicas justificaram a busca de solução para a questão em pauta. Com este objetivo, revisões sistemáticas associadas ou não à meta-análise devem direcionar tomadas de decisões, capazes de indicar uma resposta certificada por argumentos confiáveis. A maior dificuldade encontrada vincula-se a vasta quantidade de informações, o que certamente realça investigações com conclusões concordantes e discordantes.

A maioria dos estudos associa-se a experimentos *in vitro* ou animais. O cuidado que deve ser ressaltado envolve a adoção de condutas, de forma inapropriada, a partir da extrapolação dos resultados obtidos, o que não permite, em muitas situações, uma decisão clínica para protocolos terapêuticos em humanos.

Todavia, não se podem desconsiderar estudos que não sejam essencialmente desenvolvidos em humanos, pois, anterior aos testes de aplicação em humanos, alguns testes têm sido exigidos para avaliação biológica dos materiais dentários, entre os quais incluem o teste inicial, teste secundário, para então, se chegar ao teste de aplicação.

Neste mesmo quadrante, torna-se natural à nova visão e rotina científica verificar a validade de estudos que buscam subsidiar uma discussão, muitas vezes referendada com embasamento por evidência. No entanto, estudos relacionados à meta-análises com qualidade tem sido alvo de busca (estudos controlados randomizados – bem delineados, estudos clínicos não randomizados, estudos de coorte, ou estudos caso-controle com resultados consistentes).

Neste sentido, Siwek *et al.* (2002) relacionaram os níveis de evidência em três categorias:

- Nível A (estudos controlados randomizados / meta-análise); estudos controlados randomizados de alta qualidade que consideraram todos os resultados importantes. Meta-análise de alta qualidade (revisão sistemática quantitativa) que usaram estratégia de busca abrangente.

- Nível B (um estudo clínico não randomizado, bem delineado). Uma revisão sistemática não quantitativa, com estratégias de busca apropriadas com conclusões bem substanciais. Inclui estudos controlados randomizados de baixa qualidade, estudos de coorte, estudos caso-controle com uma não padronização dos participantes e achados consistentes. Outras evidências com alta qualidade, estudos históricos não controlados ou estudos epidemiológicos bem delineados com achados convincentes, também são incluídos.

- Nível C (consenso / opinião pessoal), ponto de vista consensual ou opinião pessoal.

O presente estudo foi planejado a partir de uma revisão sistemática da literatura desenvolvida por meio de banco de dados eletrônicos, seguido pela seleção com base na importância e validade pela análise das evidências. Este estudo foi desenvolvido com base em investigações prévias, desta mesma natureza (SIWEK, 1997; LELES *et al.*, 2000; GREENHALGH, 2001; GLASZIOU, 2001; SIWEK *et al.*, 2002; HEYDECKE *et al.*, 2002; NIEDERMAN & THEODOSOPOULOU, 2003; GIANNOTTI, 2004; LAW & MESSER, 2004; McINTOSH *et al.*, 2004; ESPOSITO *et al.*, 2005; LYMAN & KUDERER, 2005; GAPSKI *et al.*, 2005; NEVES *et al.*, 2006; CAMILLIERI & PITT FORD, 2006; NAITO *et al.*, 2006).

A estratégia de busca utilizou-se dos termos – *Enterococcus faecalis* and *Calcium hydroxide* ou, *Enterococcus faecalis* and *Endodontic* – como palavras-chave em várias combinações. Os estudos foram selecionados por dois revisores, independentes, que, também, determinaram os critérios de inclusão e exclusão, de acordo com as Tabela 1 e 2. A busca demonstrou 178 artigos relacionados, sendo que destes, 5 artigos eram de revisão de literatura, 35 artigos envolviam estudos *in vivo* (humanos ou animais), e 138 incluíam estudos *in vitro*. Dos 35 estudos *in vivo* 3 preencheram os critérios de inclusão, o que possibilitou a análise dos dados (Figura 1).

Sundqvist *et al.* (1998) determinaram a microbiota endodôntica posterior ao insucesso do tratamento endodôntico em 54 dentes com evidências radiográficas de lesão óssea periapical. Os canais foram instrumentados, irrigados com hipoclorito de sódio a 0,5%, seguido da colocação da pasta de hidróxido de cálcio, mantidos por 7 a 14 dias, seguido da obturação dos canais radiculares. Nos 9 casos em que o

E. faecalis foi isolado, este foi o único microrganismo presente no canal radicular. Cinquenta dos 54 casos tratados (93%) estavam disponíveis para retorno. Trinta e sete das lesões foram completamente reparadas e 13 casos apresentaram-se como insucessos - um índice de sucesso de 74%. O índice de sucesso para os dentes nos quais *E. faecalis* foi isolado depois da remoção da obturação prévia, foi menor (66%) que a média para todo o material. Em amostras tiradas no momento da obturação, microrganismos foram recuperados em 6 canais. Quatro das lesões associadas com esses dentes não repararam, sendo que 3 desses dentes continham *E. faecalis* e o quarto canal abrigava *A. israelii*. Nos 2 dentes em que houve reparo da lesão periapical, o *E. faecalis* foi isolado no momento da obturação. Dos dentes com microrganismos não recuperáveis no momento da obturação, 35 de 44 dentes repararam – um índice de sucesso de 80%. Peciulien *et al.* (2001) determinaram a ocorrência e o papel de leveduras, bastonetes entéricos Gram-negativos e espécies de *Enterococcus* em dentes humanos com obturação radicular e periodontite apical assintomática. Quarenta dentes foram divididos em dois grupos. No primeiro, os canais foram preenchidos com hidróxido de cálcio durante 10-14 dias posterior a limpeza e modelagem; no segundo, canais foram irrigados com solução iodo iodeto de potássio por 5 minutos após a limpeza e modelagem seguido pela obturação permanente. Amostras microbianas foram coletadas dos canais antes e após o preparo do canal radicular, seguido de irrigação de solução iodo iodeto de potássio. Amostras microbianas foram isoladas em 33 dos 40 dentes iniciais. Leveduras foram isoladas de 6 dentes, 3 deles associados com *E. faecalis*. O *E. faecalis* foi isolado em 21 das 33 culturas positivas dos dentes; 11 em monoinfecção. Na segunda coleta foi detectado crescimento em 10 dentes, sendo que em 6 dos 10 casos eram *E. faecalis*. Zerella *et al.* (2005) compararam *in vivo* o efeito de uma pasta de

hidróxido de cálcio associada ou não a clorexidina a 2% no controle microbiano de dentes com fracassos endodônticos. Quarenta dentes foram retratados e medicados por mais de 3 vezes em intervalos de 7-10 dias com as medicações descritas. Da população total das amostras, 12 de 40 (30%) foram positivas para bactérias antes de obturação radicular. A pasta de hidróxido de cálcio com veículo aquoso promoveu controle microbiano em 12 de 20 (60%) dentes, que incluindo 2 de 4 dentes inicialmente diagnosticados com enterococos. A pasta de hidróxido de cálcio com clorexidina foi efetiva em 16 dos 20 (80%) dentes no início da terceira consulta. Nenhum dos dentes que continham enterococos originalmente mostrou crescimento remanescente. A mistura do hidróxido de cálcio e clorexidina mostrou-se tão eficaz quanto a pasta de hidróxido de cálcio com veículo aquoso.

Nestes três estudos que satisfizeram os critérios de inclusão (SUNDQVIST *et al.*, 1998; PECIULENE *et al.*, 2001; ZERELLA *et al.*, 2005) foram analisados 134 dentes com infecção endodôntica secundária. Em 94 dentes tratados com pasta de hidróxido de cálcio associado à solução fisiológica, 74 dentes o tratamento endodôntico inicial era conhecido e foi efetuado entre 4 e 10 anos atrás. Após a remoção do material obturador de 94 dentes, em 34 identificou-se o *E. faecalis* por meio de cultura ou PCR. Posterior ao processo de sanificação (preparo do canal radicular, ação de irrigantes - hipoclorito de sódio de 0,5 a 2,5%), e emprego da pasta de hidróxido de cálcio associado à solução fisiológica como medicação intracanal durante o período de 7 a 14 dias, identificou-se o *E. faecalis* em 11 dentes (Tabela 4). O tamanho das amostras iniciais que identificaram o *E. faecalis* foi muito pequeno comparado ao total das amostras, sendo que esta bactéria foi identificada após a medicação intracanal em 3, 6 e 2 casos, para uma coleta inicial de 9, 21 e 4 amostras, respectivamente para os trabalhos selecionados.

O objetivo do ensaio foi avaliar estudos longitudinais da eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis* identificado por meio de cultura ou reação em cadeia da polimerase.

A tentativa de combinação dos resultados dos trabalhos que atenderam os critérios de inclusão não possibilitou comparações, devido à ausência de homogeneidade e padronização entre os delineamentos experimentais, bem como as estratégias clínicas empregadas.

Alguns obstáculos nas análises dos dados pertinentes aos estudos incluídos envolveram dados metodológicos que foram ocultados e que apresentam relativo grau de importância. Assim, observa-se o registro de heterogeneidade dos procedimentos clínicos, o que implica em limitações dos métodos utilizados.

Os estudos baseados na qualidade dos testes clínicos reportados impõem à necessidade de rever os protocolos clínicos de rotina. Neste sentido, alguns aspectos requerem cuidados para não permanecerem ocultos, sendo que podem ser incluídos quando necessários em futuros estudos, como por exemplo: a) relacionados ao indivíduo voluntário (idade, gênero, raça, condições gerais de saúde, etc.); b) relacionados à amostra (dente em estudo); 1- padronização das amostras – tamanho da amostra; 2- seleção do dente(s); 3- posição do dente no arco (anterior ou posterior); 4- o arco (maxila ou mandíbula); 5- número de canais radiculares; 6- presença de infecção endodôntica (primária, secundária, persistente), e sua associação com rarefação óssea periapical; 7- definir a patologia presente, etc.; c) relacionados ao material a ser testado – a seleção do material, o controle de qualidade, a manipulação ou associação do material com outro, padronização de volume ou consistência, padronização da técnica de aplicação do material; d) relacionados ao tipo de estudo (seleção do modelo que melhor permita responder a

questão); desenvolver os testes de acordo com padronizações bem estabelecidas, em que haja o menor número possível de variáveis, etc.

Por conseguinte, aspectos relevantes dos estudos que atenderam os critérios de inclusão (SUNDQVIST *et al.*, 1998; PECIULENE *et al.*, 2001; ZERELLA *et al.*, 2005) foram considerados no presente trabalho, entre os quais incluem: o modelo e o tamanho da amostra, o tempo decorrido do tratamento endodôntico inicial até o presente momento, o número de canais radiculares por dente envolvidos na pesquisa, o método de identificação da bactéria, a presença do *E. faecalis* nas amostras iniciais, as substâncias medicamentosas utilizadas durante o processo de sanificação, o tempo de manutenção da medicação intracanal anterior à obturação e a eficácia do hidróxido de cálcio sobre a bactéria em questão. Observaram-se alguns dados importantes do delineamento experimental que estavam ocultos, não sendo identificados (Tabela 3).

Contudo, a dificuldade na comparação dos estudos ocorreu em função de diferenças das estratégias de estudos empregados, como – a padronização do limite de dilatação após o esvaziamento do canal radicular, bem como a escolha da técnica de instrumentação; padronização do dente e tamanho da amostra selecionada; padronização do material teste, a técnica de colocação do material teste e certificação de seu correto preenchimento; o controle de qualidade da solução irrigadora bem como a variação em sua concentração; critérios para a detecção da lesão periapical, etc. Estes fatores expressam a heterogeneidade dos protocolos clínicos, os quais, muitas vezes, acarretam implicações limitantes aos estudos.

O êxito de uma meta-análise incide sobre um alvo singular de um protocolo único, resumido. Todavia, o extenso número de trabalhos publicados pode

trazer em seu contexto conclusões contraditórias. A variabilidade entre as metodologias utilizadas, seleção de estudos, vício de publicação, acesso global às informações de todos os experimentos universais e a própria natureza dos ensaios, sinaliza algumas implicações críticas e de difícil equacionamento deste método de trabalho.

O modelo de ensaio adotado no presente estudo não permitiu uma combinação ideal de resultados, o que torna crítico sua correlação, em função da variabilidade dos delineamentos utilizados, o que caracterizou uma heterogeneidade dos protocolos clínicos adotados. Este fato limitou a execução da meta-análise. Entretanto, há que se considerar algumas pressuposições para validação de hipóteses e conjecturas presentes.

Em muitas oportunidades a ausência de estudos que permitam a validação de uma hipótese impede que se chegue a solução viável para o problema. Todavia, novas hipóteses podem ser avaliadas em futuros trabalhos.

Várias pesquisas documentaram a presença de *E. faecalis* nas infecções endodônticas pós-tratamento, em decorrência de suas características adaptativas intrínsecas e adquiridas. É comumente isolado do canal radicular em cultura pura. Um fato interessante relaciona-se à natureza polimicrobiana das infecções endodônticas, sendo que o isolamento de apenas uma espécie não necessariamente constitui uma monoinfecção (BYSTRÖM *et al.*, 1985; MOLANDER *et al.*, 1998; SUNDQVIST *et al.*, 1998; PORTENIER *et al.*, 2003; CHÁVEZ DE PAZ, 2004).

Sundqvist & Figdor (2003), discutindo a vida de um patógeno endodôntico realçaram que a infecção do canal radicular não é caracterizada por um evento randomizado. Sirén *et al.* (1997), investigando a relação entre procedimentos

clínicos e a ocorrência de bactérias entéricas facultativas em infecções radiculares, observaram que o *E. faecalis* representa o grupo de bactérias entéricas mais comum. Em 33% dos casos, em que o *E. faecalis* foi isolado, apareceu como uma monoinfecção.

Devem ser privilegiados todos os cuidados quanto à técnica de coleta e para transporte, a cultura e o isolamento dos diferentes tipos de microrganismos. É salutar ressaltar que a cultura é uma técnica importante e amplamente empregada na rotina microbiológica. Com relação à endodontia, a cultura pode ser associada às identificações através de PCR, considerando algumas características particulares da microbiota do canal radicular: presença de microrganismos de difícil cultivo, grande número de microrganismos anaeróbios. Como limitação, o PCR detecta microrganismos presentes no canal radicular, o que não significa que estes estejam viáveis. Deve-se considerar a possibilidade de identificação de microrganismos que penetraram no canal radicular, porém, não conseguiram se estabelecer e sobreviver e, até o momento, não se sabe quanto tempo o DNA de microrganismos mortos pode persistir no canal radicular (SUNDQVIST & FIDGOR, 2003).

O problema em questão que se busca uma adequada resposta envolve a eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis* presente nas infecções endodônticas.

O primeiro aspecto a ser analisado direciona-se a bactéria presente no canal radicular, em que o material em discussão possa expressar seu real potencial de ação - sim, o hidróxido de cálcio apresenta efetividade sobre o *E. faecalis*. No entanto, adotando como parâmetro a localização da bactéria no interior dos túbulos dentinários, onde o hidróxido de cálcio necessita de tempo para alcalinizar a dentina, e em decorrência de uma alcalinização não tão expressiva, esta bactéria pode

mostrar-se resistente, uma vez que este fármaco não exercerá sua real atividade antimicrobiana.

Assim, o desfecho da revisão sistemática direcionou para uma possível solução, com base em evidência, que valida a eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis* presente nas infecções endodônticas. Os argumentos vigentes relacionam-se ao fato de que a pasta de hidróxido de cálcio associada à solução fisiológica apresenta-se pH com valor aproximado de 12,4, considerando o canal radicular. Acresça-se a estes dados, a ausência de estudos que provam a sobrevivência desta bactéria em tão elevado nível de alcalinidade.

Byström *et al.* (1985) e Evans *et al.* (2003) mostraram que o *E. faecalis* tolera um pH aproximado de 11. Outrossim, deve-se observar dois parâmetros distintos. A infecção do canal radicular e sua extensão para os túbulos dentinários. Neste contexto, admite-se que o pH da pasta de hidróxido de cálcio na luz do canal radicular fique acima de 12, porém, nos túbulos dentinários e na superfície externa da raiz fique abaixo deste valor (TROSNTAD *et al.*, 1981; ESTRELA *et al.*, 1995), permitindo uma melhor condição à sobrevivência do *E. faecalis*. Outro aspecto a ser valorizado diz respeito ao seu limite de ação, ou seja, uma ação por contato direto (no canal radicular) ou uma difusão à distância (no interior dos túbulos dentinários). Pode-se perceber em vários ensaios a efetividade do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis* por contato direto em pequenos intervalos de tempo (ESTRELA *et al.*, 1998, 2001), entretanto, dentro dos túbulos dentinários a permanência com viabilidade desta bactéria, mesmo na presença de pasta de hidróxido de cálcio no interior do canal radicular foi comprovada por longo período de tempo (ESTRELA *et al.*, 1999, 2003). Além dos fatores limitantes quanto ao pH, observam-se as condições ecológicas críticas que esta bactéria consegue sobreviver.

Tronstad *et al.* (1981) analisaram a difusão de íons hidroxila do hidróxido de cálcio através dos túbulos dentinários e o possível aumento do pH nos tecidos de macacos com rizogênese incompleta e completa. Os canais radiculares foram instrumentados e preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio e solução Ringer. Os dentes com formações radiculares completas e tratados com pasta de hidróxido de cálcio mostraram valores de pH na dentina próxima à polpa de 8,0 a 11,1; e, na dentina periférica de 7,4 a 9,6. Nos dentes com formações radiculares incompletas, toda dentina mostrou-se com pH 8,0 a 10,0 e o cimento 6,4 a 7,0, ou seja, não influenciado pelo hidróxido de cálcio. Nas áreas de reabsorção nas superfícies dentinárias expostas, pH alcalino entre 8,0 e 10,0 foi observado. Os dentes não tratados e com necrose pulpar apresentaram pH 6,0 a 7,4 na polpa, dentina, cimento e ligamento periodontal.

À sua vez, Love (2001) investigou o possível mecanismo capaz de explicar a capacidade do *E. faecalis* de sobreviver e crescer dentro dos túbulos dentinários e reinfetar um canal radicular obturado. Observou-se que o fator de virulência do *E. faecalis* pode estar relacionado à habilidade para invadir os túbulos dentinários e aderir ao colágeno, mesmo na presença de soro humano.

Evans *et al.* (2003) mostraram que o funcionamento da bomba de prótons, que governa a entrada de prótons na célula para acidificar o citoplasma, é crítica para a sobrevivência do *E. faecalis* em meios altamente alcalinos. Presumivelmente, quando a alcalinidade do meio alcança um pH igual ou superior a 11,5 esse mecanismo é ineficaz. Esse estudo confirmou que o *E. faecalis* é resistente ao hidróxido de cálcio em pH igual ou inferior a 11,1. Uma resposta adaptativa ao pH alcalino e a síntese de proteínas induzidas por *stress* parecem ter um papel menor na sobrevivência celular, enquanto que o funcionamento da bomba de prótons, que

tem a capacidade de acidificar o citoplasma, mostrou-se crítico à sobrevivência dessas bactérias em meios de elevado pH.

Estrela *et al.* (2006), determinando a efetividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio, clorexidina, água ozonificada e gás ozônio em canal radicular infectado por *E. faecalis*, salientaram que qualquer medicamento que não encontra a bactéria alvo, sua real eficácia em eliminá-la não pode ser expressa. Contudo, não se pode afirmar que a bactéria foi resistente a uma ou outra medicação. Neste caso, a bactéria foi capaz de sobreviver, adaptar e tolerar as condições críticas ecológicas presentes.

A resolução do problema, mesmo ciente das limitações, implica em novas hipóteses, que certamente tentarão ser solucionadas por outros estudos.

Pode-se assim ter ainda como hipótese – caso considere-se que o *E. faecalis* seja realmente resistente ao hidróxido de cálcio, qual alternativa de medicação intracanal seria viável para as situações clínicas de fracassos endodônticos? As substâncias irrigadoras utilizadas durante o preparo do canal radicular (especialmente o hipoclorito de sódio ou a clorexidina), também são ineficazes frente ao *E. faecalis*? A literatura apresenta argumentos convincentes capazes de responder o problema em questão com base em evidência?

O maior desafio talvez venha ao encontro de muitos pesquisadores, que se alicerça na em boa vontade e perseverança de solucionar problemas que afetam a saúde do indivíduo, na reflexão e na coragem de buscar novas alternativas terapêuticas. A busca das infinitas e duradouras verdades científicas são minuto a minuto revistas, sob a ótica da validade, aplicabilidade e evidência, mantendo o contínuo debate sobre o protocolo clínico mais apropriado que assegure o melhor índice de sucesso.



6. CONCLUSÃO

Baseado na revisão sistemática da literatura, realizada a partir de estudos longitudinais da eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis* em infecções endodônticas, parece lícito concluir que:

1. A heterogeneidade dos estudos não permitiu uma adequada combinação de resultados. Estudos *in vitro* mostraram a eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis*. Nos três estudos em humanos que satisfizeram os critérios de inclusão para análise de evidência científica, de um total de 94 dentes com infecções secundárias, em 34 dentes o *E. faecalis* foi detectado no início do tratamento e 11 permaneceram após o processo de sanificação e emprego da pasta de hidróxido de cálcio. Considerando a estimativa de êxito decorrente do sucesso clínico dos trabalhos analisados, verifica-se evidência da eficácia do hidróxido de cálcio sobre o *E. faecalis*.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDULLAH, M.; NG, Y.L.; GULABIVALA, K.; MOLES, D.R.; SPRATT, D.A. Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. **J. Endod.**, v.31, p.30-6, 2005.
2. ALLARD, U.; STROMBERG, U.; STROMBERG, T. Endodontic treatment of experimentally induced apical periodontitis in dogs. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.3, p.240-4, 1987.
3. ALMYROUDI, A.; MACKENZIE, D.; MCHUGH, S.; SAUNDERS, W.P. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an in vitro study. **J. Endod.**, v.28, p.163-7, 2002.
4. AL-NAZHAN, S. Antimicrobial activity of extracts of calcium hydroxide points. **Oral Surg. Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.93, p.593-5, 2002.
5. AMORIM, C.V.; AUN, C.E.; MAYER, M.P. Susceptibility of some oral microorganisms to chlorhexidine and paramonochlorophenol. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v.18, p.242-6, 2004.
6. ASSOULINE, L.S.; FUSS, Z.; MAZOR, Y.; WEISS, E.I. Bacterial penetration and proliferation in root canal dentinal tubules after applying dentin adhesives in vitro. **J. Endod.**, v.27, p.398-400, 2001.
7. AYHAN, H.; SULTAN, N.; CIRAK, M.; RUHI, M.Z.; BODUR, H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. **Int. Endod. J.**, v.32, p.99-102, 1999.

8. BAKER, N.E.; LIEWEHR, F.R.; BUXTON, T.B.; JOYCE, A.P. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide, iodine potassium iodide, betadine, and betadine scrub with and without surfactant against *Enterococcus faecalis* in vitro. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.98, p.359-64, 2004.
9. BARBOSA, S.V.; SPÅNGBERG, L.S.; ALMEIDA, D. Low surface tension calcium hydroxide solution is an effective antiseptic. **Int. Endod. J.**, v.27, p.6-10, 1994.
10. BARROSO, L.S.; HABITANTE, S.M.; JORGE, A.O.; FARIA, I.S. Microorganisms growth in endodontic citric-acid solutions with and without microbiological stabilizer. **J. Endod.**, v.30, p.42-4, 2004.
11. BASRANI, B.; SANTOS, J.M.; TJADERHANE, L.; GRAD, H.; GORDUYSUS, O.; HUANG, J.; LAWRENCE, H.P.; FRIEDMAN, S. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.94, p.240-5, 2002.
12. BASRANI, B.; TJADERHANE, L.; SANTOS, J.M.; PASCON, E.; GRAD, H.; LAWRENCE, H.P.; FRIEDMAN, S. Efficacy of chlorhexidine - and calcium hydroxide – containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.96, p.618-24, 2003.

13. BAUMGARTNER, J.C.; SIQUEIRA-JR, J.F.; XIA, T.; RÔÇAS, I.N. Geographical differences in bacteria detected in endodontic infections using polymerase chain reaction. **J. Endod.**, v.30, p.141-4, 2004.
14. BEHNEN, M.J.; WEST, L.A.; LIEWEHR, F.R.; BUXTON, T.B.; MCPHERSON, J.C. Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. **J. Endod.**, v.27, p.765-7, 2001.
15. BERGENHOLTZ, G. Effects of bacterial products on inflammatory reactions in the dental pulp. **Scand. J. Dent. Res.**, v.85, p.122-129, 1977.
16. BERGMANS, L.; MOISIADIS, P.; TEUGHEL, W.; VAN MEERBEEK, B.; QUIRYNEN, M.; LAMBRECHTS, P. Bactericidal effect of Nd:YAG laser irradiation on some endodontic pathogens ex vivo. **Int. Endod. J.**, v.39, p.547-57, 2006.
17. BODRUMLU, E.; SEMIZ, M. Antibacterial activity of a new endodontic sealer against *Enterococcus faecalis*. **J. Can. Dent. Assoc.**, v.72, p.637, 2006.
18. BOZZA, F.L.; MOLGATINI, S.L.; PEREZ, S.B.; TEJERINA, D.P.; PEREZ TITO, R.I.; KAPLAN, A.E. Antimicrobial effect in vitro of chlorhexidine and calcium hydroxide impregnated gutta-percha points. **Acta Odontol. Latinoam.**, v.18, p.51-6, 2005.
19. BUCK, R.A.; ELEAZER, P.D.; STAAT, R.H.; SCHEETZ, J.P. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. **J. Endod.**, v.27, p.206-8, 2001.

20. BYSTRÖM, A.; CLAEISSON, R.; SUNDQVIST, G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.1, p.170–5, 1985.
21. CAMILLERI, J.; PITT FORD, T.R. Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. **Int. Endod. J.**, v.39, p.747–754, 2006.
22. CHANDLER, N.P.; HELING, I. Efficacy of three cavity liners in eliminating bacteria from infected dentinal tubules. **Quint. Int.**, v.26, p.655-9, 1995.
23. CHÁVEZ DE PAZ, L. Gram-positive organisms in endodontic infections. **Endodontic Topics**, v.9, p. 79–96, 2004.
24. COBANKARA, F.K.; ALTINOZ, H.C.; ERGANI, O.; KAV, K.; BELLI, S. In vitro antibacterial activities of root-canal sealers by using two different methods. **J. Endod.**, v. 30, p.57-60, 2004.
25. CWIKLA, S.J.; BELANGER, M.; GIGUERE, S.; PROGULSKE-FOX, A.; VERTUCCI, F.J. Dentinal tubule disinfection using three calcium hydroxide formulations. **J. Endod.**, v.31, p.50-2, 2005.
26. DAHLÉN, G.; HOFSTAD, T. Endotoxic activities of lipopolysaccharides of microorganisms isolated from an infected root canal in *Macaca cynomolgus*. **Scand. Dent. Res.**, v.85, p.272-278, 1977.

27. DAHLÉN, G.; SAMUELSSON, W.; MOLANDER, A.; REIT, C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.15, p.309-12, 2000.
28. DAMETTO, F.R.; FERRAZ, C.C.; ALMEIDA, G.B.P.; ZAIA, A.A.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.99, p.768-72, 2005.
29. DISTEL, J.W.; HATTON, J.F.; GILLESPIE, M.J. Biofilm formation in medicated root canals. **J. Endod.**, v.28, p.689-93. 2002.
30. DRUCKER, D.B.; LILLEY, J.D.; TUCKER, D.; GIBBS, A.C. The endodontic microflora revisited. **Microbios**, v.71, p.225-34, 1992.
31. DUNAVANT, T.R.; REGAN, J.D.; GLICKMAN, G.N.; SOLOMON, E.S.; HONEYMAN, A.L. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. **J. Endod.**, v.32, p.527-31, 2006.
32. EDDY, R.S.; JOYCE, A.P.; ROBERTS, S.; BUXTON, T.B.; LIEWEHR, F. An in vitro evaluation of the antibacterial efficacy of chlorine dioxide on *Enterococcus faecalis* in bovine incisors. **J. Endod.**, v.31, p.672-5, 2005.
33. ERCAN, E.; DALLI, M.; DULGERGIL, C.T. 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.**, v.102, p.27-31, 2006.
34. ESPOSITO, M.; GRUSOVIN, M.G.; COULTHARD, P.; THOMSEN, P.; WORTHINGTON, H.V. A 5-year follow-up comparative analysis of the efficacy of various osseointegrated dental implant systems: a systematic review of randomized controlled clinical trials. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants.** v.20, p.557-68, 2005.
35. ESTRELA, C.; BAMMANN, L.L.; ESTRELA, C.R.; SILVA, R.S.; PÉCOR, J.D. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal, **Braz. Dent. J.**, v.11, p.3-9, 2000.
36. ESTRELA, C.; BAMMANN, L.L.; PIMENTA, F.C.; PÉCOR, J.D. Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide paste. **Int. Endod. J.**, v.34, p.341-5, 2001.
37. ESTRELA, C.; ESTRELA, C.R.A.; BAMMANN, L.L.; PÉCOR, J.D. Two methods to evaluate the antimicrobial action of calcium hydroxide paste. **J. Endod.**, v.27, p.720-3, 2001.
38. ESTRELA, C.; ESTRELA, C.R.A.; DECURCIO D.A.; HOLLANDA, A.C.B.; SILVA J.A. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. **Int. Endod. J.**, 2006. (in press –on line early)

39. ESTRELA, C.; ESTRELA, C.R.A.; PÉCORÁ, J.D. A study of the time necessary for calcium hydroxide to eliminate microorganism in infected canals. **J. Appl. Oral Sci.** v.12, p.133-137, 2003.
40. ESTRELA, C.; HOLLAND, R. Calcium hydroxide: study based on scientific evidences. **J. Appl. Oral Sci.**, v.11, p.269-282, 2003.
41. ESTRELA, C.; PIMENTA, F.C.; ITO, I.Y.; BAMMANN, L.L. Antimicrobial evaluation of calcium hydroxide in infected dentinal tubules. **J. Endod.**, v.25, p.416-8. 1999.
42. ESTRELA, C.; PIMENTA, F.C.; ITO, I.Y.; BAMMANN, L.L. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. **J. Endod.**, v.24, p.15-7, 1998.
43. ESTRELA, C.; SYDNEY, G.B.; PESCE, H.F.; FELIPPE-JR, O. Dentinal diffusion of hydroxyl ions of various calcium hydroxide pastes. **Braz. Dent. J.**, v.6, p.5-9, 1995.
44. ESTRELA, C.R.A.; ESTRELA, C.; REIS, C.; BAMMANN, L.L.; PÉCORÁ, J.D. Control of microorganisms in vitro by endodontic irrigants. **Braz. Dent. J.**, v.11, p.133-7, 2003.
45. EVANOV, C.; LIEWEHR, F.; BUXTON, T.B.; JOYCE, A.P. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide and chlorhexidine gluconate irrigants at 37 degrees C and 46 degrees C. **J. Endod.**, v.30, p.653-7, 2004.

46. EVANS, M.; BAUMGARTNER, J.C.; KHEMALEELAKUL, S.U.; XIA, T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. **J. Endod.**, v.29, p.338-9, 2003.
47. EVANS, M.; DAVIES, J.K.; SUNDQVIST, G.; FIDGOR, D. Mechanism involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **Int. Endod. J.**, v.35, p.221-28, 2002.
48. FABRICIUS, L.; DAHLÉN, G.; SUNDQVIST, G.; HAPPONEN, R.P.; MÖLLER, A.J.R. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. **Eur. J. Oral Sci.**, v.114, p.278-85, 2006.
49. FERRARI, P.H.; CAI, S.; BOMBANA, A.C. Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections. **Int. Endod. J.**, v.38, p.372-80, 2005.
50. FERRAZ, C.C.; GOMES, B.P.; ZAIA, A.A.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. **J. Endod.**, v.27, p.452-5, 2001.
51. FIGDOR, D. Microbial aetiology of endodontic treatment failure and pathogenic properties of selected species. **Aust. Endod. J.**, v.30, p.11-4, 2004.

52. FIGDOR, D.; DAVIES, J.K.; SUNDQVIST, G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.18, p.234-9, 2003.
53. FLEMING, P.S.; DERMODY, J. Endodontic retreatment: explaining success rates and illustrated cases. **J. Ir. Dent. Assoc.**, v.49, p.95-100, 2003.
54. FLEMMING, T.F.; RÜDIGER, S.; HOFMANN, U. SCHMIDT, H.; PLASCHKE, B.; STRÄTZ, A. Identification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival plaque by PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v.33, p.3102-3105, 1995
55. FOSCHI, F.; CAVRINI, F.; MONTEBUGNOLI, L.; STASHENKO, P.; SAMBRI, V.; PRATI, C. Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and association with defined clinical signs in Italian patients. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.20, p.289-95, 2005.
56. FOUAD, A. Primer sensitivity: can it influence the results in *Enterococcus faecalis* prevalence studies? **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.6, 2006. (in press)
57. FOUAD, A.F.; BARRY, J. The effect of antibiotics and endodontic antimicrobials on the polymerase chain reaction. **J. Endod.**, v.31, p.510-3, 2005.
58. FOUAD, A.F.; KUM, K-Y.; CLAWSON, M.L.; BARRY, J.; ABENOJA, C.; ZHU, Q.; CAIMANO, M.; RADOLF, J.D. Molecular characterization of the presence of *Eubacterium spp.* and *Streptococcus spp.* in endodontic infections. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 18, p. 249-255, 2003.

59. FOUAD, A.F.; ZERELLA, J.; BARRY, J.; SPÅNGBERG, L.S. Molecular detection of *Enterococcus species* in root canals of therapy-resistant endodontic infections. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.99, p.254, 2005.
60. FRENCH, C.K.; SAVITT, E.D.; SIMON, S.L.; EKLUND, S.M.; CHEN, M.C.; KLOTZ, L.C.; VACCARO, K.K. DNA probe detection of periodontal pathogens. **Oral Microbiol Immunol.**, v.1, p.58-62, 1986.
61. FUSS, Z.; CHARNIAQUE, O.; PILO, R.; WEISS, E. Effect of various mixing ratios on antibacterial properties and hardness of endodontic sealers. **J. Endod.**, v.26, p.519-22, 2000.
62. FUSS, Z.; MIZRAHI, A.; LIN, S.; CHERNIAK, O.; WEISS, E.I. A laboratory study of the effect of hydroxide mixed with iodine or electrophoretically copper on bacterial viability in dentinal tubules. **Int. Endod. J.**, v.35, p.522-6, 2002.
63. FUSS, Z.; WEISS, E.I.; SHALHAV, M. Antibacterial activity of calcium hydroxide-containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis* in vitro. **Int. Endod. J.**, v.30, p.397-402, 1997.
64. GAPSKI, R.; PARKS, C.A.; W, H. Acellular dermal matrix for mucogingival surgery; a meta-analysis. **J. Periodontol.**, v.76, p.1814-1822, 2005.
65. GARCEZ, A.S.; NUNEZ, S.C.; LAGE-MARQUES, J.L.; JORGE, A.O.; RIBEIRO, M.S. Efficiency of NaOCl and laser-assisted photosensitization on

- the reduction of *Enterococcus faecalis* in vitro. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.102, p.93-8, 2006.
66. GIANNOTTI, J.D.G. **Meta-Análise de parâmetros genéticos de características de crescimento em bovinos de corte sob enfoques clássicos e bayesianos**. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2004. 86p.
67. GLASZIOU, P. Systematic reviews in health care: a practical guide. Cambridge: University Press; 2001.
68. GOMES, B. P.; PINHEIROS, E. T.; GADÊ-NETO, C. R.; SOUSA, E. L. R.; FERRAZ, C. C. R.; ZAIA, A. A.; TEIXEIRA, F. B.; SOUZA-FILHO, F. J. Microbiological examination of infected dental root canals. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 19, p. 71-76, 2004.
69. GOMES, B.P.; FERRAZ, C.C.; GARRIDO, F.D.; ROSALEN, P.L.; ZAIA, A.A.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. Microbial susceptibility to calcium hydroxide paste and their vehicles. **J. Endod.** v.28, p.758-61, 2002.
70. GOMES, B.P.; FERRAZ, C.C.; VIANNA, M.E.; BERBER, V.B.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.**, v.34, p.424-8, 2001.
71. GOMES, B.P.; PEDROSO, J.A.; JACINTO, R.C.; VIANNA, M.E.; FERRAZ, C.C.; ZAIA, A.A.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of five root canal sealers. **Braz. Dent. J.**, v.15, p.30-5, 2004.

72. GOMES, B.P.; PINHEIRO, E.T.; GADE-NETO, C.R.; SOUSA, E.L.; FERRAZ, C.C.; ZAIA, A.A.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. Microbiological examination of infected dental root canals. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.19, p.71-6, 2004.
73. GOMES, B.P.; PINHEIRO, E.T.; SOUSA, E.L.; JACINTO, R.C.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C.C.; SOUZA-FILHO, F.J. *Enterococcus faecalis* in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.102, p.247-53, 2006.
74. GOMES, B.P.; SOUZA, S.F.; FERRAZ, C.C.; TEIXEIRA, F.B.; ZAIA, A.A.; VALDRIGHI, L.; SOUZA-FILHO, F.J. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. **Int. Endod. J.**, v.36, p.267-75, 2003.
75. GOMES, B.P.; VIANNA, M.E.; SENA, N.T.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C.C.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.102, p.544-50, 2006.
76. GREENHALGH, T. How to read a paper: the basics of evidence based medicine. 2nd: London: BMJ Books; 2001.
77. GUTKNECHT, N.; FRANZEN, R.; SCHIPPERS, M.; LAMPERT, F. Bactericidal effect of a 980-nm diode laser in the root canal wall dentin of bovine teeth. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v.22, p.9-13, 2004.

78. GUTKNECHT, N.; VAN GOGSWAARDT, D.; CONRADS, G.; APEL, C.; SCHUBERT, C.; LAMPERT, F. Diode laser radiation and its bactericidal effect in root canal wall dentin. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v.18, p.57-60, 2000.
79. HAAPASALO, H.K.; SIRÉN, E.K.; WALTIMO, T.M.; ØRSTAVIK, D.; HAAPASALO, M.P. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. **Int. Endod. J.**, v.33, p.126-31, 2000.
80. HAAPASALO, M. The *Bacteroides sp.* in dental root canal infection. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.5, p.1-10, 1989.
81. HAAPSALO, M.; ØRSTAVIK, D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. **J. Dent. Res.**, v.66, p.1375-9, 1987.
82. HAENNI, S.; SCHIMIDLIN, P.R.; MUELLER, B.; SENER, B.; ZEHNDER, M. Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. **Int. Endod. J.**, v.36, p.100-5, 2003.
83. HAN, G.Y.; PARK, S.H.; YOON, T.C. Antimicrobial activity of Calcium Hydroxide containing pastes with *Enterococcus faecalis* in vitro. **J. Endod.**, v.27, p.328-32.
84. HANCOCK, H.H.; SIGURDSSON, A.; TROPE, M.; MOISEIWITSCH, J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.91, p.579-86, 2001.

85. HELING, I.; CHANDLER, N.P. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. **Int. Endod. J.**, v.31, p.8-14, 1998.
86. HELING, I.; CHANDLER, N.P. The antimicrobial Effect within Dentinal Tubules of Four Root Canal Sealer. **J. Endod.**, v.22, p.257-9. 1996.
87. HELING, I.; STEINBERG, D.; KENIG, S.; GAVRILOVICH, I.; SELA, M.N.; FRIEDMAN, M. Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and Calcium Hydroxide in preventing secondary infection of dentinal tubules. **Int. Endod. J.**, v.25, p.20-4, 1992.
88. HEYDECKE, G.; PETERS, M.C. The restoration of endodontically treated, single-rooted teeth with cast or direct post and cores: a systematic review. **J. Prosthet. Dent.**, v.87, p.380-6, 2002.
89. HOLLAND, R.; OTOBONI-FILHO, J.A.; SOUZA, V.; NERY, M.J.; BERNABÉ, P.F.E.; DEZAN-JR, E. A comparison of one versus two appointment endodontic therapy in dogs' teeth with apical periodontitis. **J. Endod.**, v.29, p.121-25, 2003a.
90. HOLLAND, R.; OTOBONI-FILHO, J.A.; SOUZA, V.; NERY, M.J.; BERNABÉ, P.F.E.; DEZAN-JR, E. Tratamiento endodontico en una o en dos visitas. Estudio histológico en dientes de perros con lesión periapical. **Endodoncia**, v.21, p.20-27, 2003b.
91. HUANG, J.; WONG, H.L.; ZHOU, Y.; WU, X.Y.; GRAD, H.; KOMOROWSKI, R.; FRIEDMAN, S. In vitro studies and modeling of a controlled-release device for root canal therapy. **J. Control Release.**, v.67, p.293-307, 2000.

92. JHA, D.; GUERRERO, A.; NGO, T.; HELFER, A.; HASSELGREN, G. Inability of laser and rotary instrumentation to eliminate root canal infection. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.137, p.67-70, 2006.
93. JOHNSON, E.M.; FLANNAGAN, S.E.; SEDGLEY, C.M. Coaggregation interactions between oral and endodontic *Enterococcus faecalis* and bacterial species isolated from persistent apical periodontitis. **J. Endod.**, v.32, p.946-50, 2006.
94. KATEBZADEH, N.; HUPP, J.; TROPE, M. Histological periapical repair after obturation of infected root canals in dogs. **J. Endod.**, v.25, p.364-68, 1999.
95. KAYAOGLU, G.; ERTEN, H.; ALACAM, T.; ØRSTAVIK, D. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.**, v.38, p.483-8, 2005.
96. KAYAOGLU, G.; ERTEN, H.; ØRSTAVIK, D. Growth at high pH increases *Enterococcus faecalis* adhesion to collagen. **Int. Endod. J.**, v.38, p.389-96, 2005.
97. KAYAOGLU, G.; ØRSTAVIK, D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v.15, p.308-20, 2004.
98. KISHEN, A.; GEORGE, S.; KUMAR, R. *Enterococcus faecalis*-mediated biomineralized biofilm formation on root canal dentine in vitro. **J. Biomed. Mater Res. A.**, v.77, p.406-15, 2006.

99. KOLZET, D.J. Endodontic therapy. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.137, p.722-24, 2006.
100. KVIST, T.; MOLANDER, A.; DAHLÉN, G.; REIT, C. Microbiological evaluation of one- and two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a randomized, clinical trial. **J. Endod.**, v.30, p.572-6, 2004.
101. LAN, W.H. Efficacy of ammoniacal silver nitrate in root canal therapy. **Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.**, v.24, p.169-76, 1977.
102. LAN, W.H.. Neutralization effect of some agents on the antimicrobial activity of ammoniacal silver nitrate. **Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.**, v.25, p.71-6, 1978.
103. LAW, A.; MESSER, H. An evidence-based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. **J. Endod.**, v.30, p.689-94, 2004.
104. LEE, M.T.; BIRD, P.S.; WALSH, L.J. Photo-activated disinfection of the root canal: a new role for lasers in endodontics. **Aust. Endod. J.**, v.30, p.93-8, 2004.
105. LEE, W.; LIM, S.; SON, H.H.; BAE, K.S. Sonicated extract of *Enterococcus faecalis* induces irreversible cell cycle arrest in phytohemagglutinin-activated human lymphocytes. **J. Endod.**, v.30, p.209-12, 2004.
106. LELES, C.R.; ROCHA, S.S.; FONTAN, R.H.B.T.S.; CAMPARIS, C.M. Estudo de avaliação longitudinal de próteses parciais fixas adesivas pelo método de Meta-análises. **Rev. Bras. Prot. Clin. & Lab.**, v.2, p.79-87, 2000.

107. LENET, B.J.; KOMOROWSKI, R.; WU, X.Y.; HUANG, J.; GRAD, H.; LAWRENCE, H.P.; FRIEDMAN, S. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. **J. Endod.**, v.26, p.652-5, 2000.
108. LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.; TONOMARU FILHO, M.; BONIFACIO, K.C.; ITO, I.Y. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and paste used in endodontic. **J. Endod.**, v.26, p.391-4, 2000.
109. LIMA, K.C.; FAVA, L.R.; SIQUEIRA-JR, J.F. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. **J. Endod.**, v.27, p.616-9, 2001.
110. LIN, S.; LEVIN, L.; WEISS, E.I.; PELED, M.; FUSS, Z. In vitro antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow-release device. **Quint. Int.**, v.37, p.391-4, 2006.
111. LIN, S.; TESIS, I.; ZUKERMAN, O.; WEISS, E.I.; FUSS, Z. Effect of electrophoretically activated calcium hydroxide on bacterial viability in dentinal tubules – in vitro. **Dent .Traumatol.**, v.21, p.42-5, 2005.
112. LIN, Y.H.; MICKEL, A.K.; CHOGLE, S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.**, v.29, p.565-6, 2003.

113. LOVE, R.M. Bacterial adhesions – their role in tubule invasion and endodontic disease. **Aust. Endod. J.**, v.28, p.25-8, 2002.
114. LOVE, R.M. *Enterococcus faecalis* - a mechanism for its role in endodontic failure. **Int. Endod. J.**, v.34, p.399-405, 2001.
115. LUI, J.N.; SAE-LIM, V.; SONG, K.P.; CHEN, N.N. In vitro antimicrobial effect of chlorhexidine – impregnated gutta-percha points on *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.**, v.37, p.105-13, 2004.
116. LYMAN, G.H.; KUDERER, N.M. The strengths and limitations of meta-analyses based on aggregate data. **BMC Medical Research Methodology**. v.5(14), p.1-7. 2005. Acessado em <<http://www.biomedcentral.com/1471-2288/5/14>> em 29/11/2006.
117. LYNNE, R.E.; LIEWEHR, F.R.; WEST, L.A.; PATTON, W.R.; BUXTON, T.B.; MCPHERSON, J.C. In vitro antimicrobial activity of various medication preparations on *Enterococcus faecalis* in root canal dentin. **J. Endod.**, v.29, p.187-90, 2003.
118. MARAIS, J.T.; WILLIAMS, W.P. Antimicrobial effectiveness of electrochemically activated water as an endodontic irrigation solution. **Int. Endod. J.**, v.34, p.237-43, 2001.
119. McINTOSH, H.M.; WOOLACOOT, N.F.; BAGNALL, A.M. Assessing harmful effects in systematic Reviews. **BMC Medical Research Methodology**.

- v.4(19), p.1-6, 2004. Acessado em <<http://www.biomedcentral.com/1471-2288/4/19>> em 28/11/2006.
120. MELKER, K.B.; VERTUCCI, F.J.; ROJAS, M.F.; PROGULSKE-FOX, A.; BELANGER, M. Antimicrobial efficacy of medicated root canal filling materials. **J. Endod.**, v.32, p.148-51, 2006.
121. MELO, G.R.; BAHIA, M.G.; VALADARES, J.O. The antibacterial action of calcium hydroxide, **Arq. Cent. Estud. Curso Odontol.**, v.21, p.56-58, 1984.
122. MENEZES, M.M.; VALERA, M.C.; JORGE, A.O.; KOGA-ITO, C.Y.; CAMARGO, C.H.; MANCINI, M.N. In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. **Int. Endod. J.**, v.37, p.311-9, 2004.
123. MICHAILESCO, P.; KOUASSI, M.; EL BRIAK, H.; ARMYNOT, A.; BOUDEVILLE, P. Antimicrobial activity and tightness of a DCPD-CaO-based hydraulic calcium phosphate cement for root canal filling. **J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.**, v.74, p.760-7, 2005.
124. MICKEL, A.K.; NGUYEN, T.H.; CHOLE, S. Antimicrobial activity of endodontic sealers on *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.**, v.29, p.257-8, 2003.
125. MICKEL, A.K.; SHARMA, P.; CHOGLE, S. Effectiveness of stannous fluoride and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.**, v.29, p.259-60, 2003.

126. MOLANDER, A.; DAHLÉN, G. Evaluation of the antibacterial potential of tetracycline or erythromycin mixed with calcium hydroxide as intracanal dressing against *Enterococcus faecalis* in vivo. **Oral Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.96, p.744-50, 2003.
127. MOLANDER, A.; LUNDQUIST, P.; PAPAPANOU, P.N.; DAHLÉN, G.; REIT, C. Protocol for polymerase chain reaction detection of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from the root canal. **Int. Endod. J.**, v. 35, p. 1–6, 2002.
128. MOLANDER, A.; REIT, C.; DAHLÉN, G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide in root canals pretreated with 5% iodine potassium iodide. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.15, p.205-9, 1999.
129. MOLANDER, A.; REIT, C.; DAHLÉN, G.; KVIST, T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **Int. Endod. J.**, v.31, p.1-7, 1998.
130. MÖLLER, A.J.R. **Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth.** (Thesis). Göteborg Akademiförlaget: University of Göteborg;1966.
131. MÖLLER, A.J.R.; FABRICIUS, L.; DAHLÉN, G.; SUNDQVIST, G.; HAPPONEN, R.P. Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. **Eur. J. Oral. Sci.**, v.112, p.207-15, 2004.

132. NAGAYOSHI, M.; KITAMURA, C.; FUKUIZUMI, T.; NISHIHARA, T.; TERASHITA, M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. **J. Endod.**, v.30, p.778-81, 2004.
133. NAITO, M.; YUASA, H.; NOMURA, Y.; NAKAYAMA, T.; HAMAJIMA, N.; HANADA, N. Oral health status and health-related quality of life: a systematic review, **J. Oral Sci.**, v.48, p.1-7, 2006.
134. NAKAJO, K.; KOMORI, R.; ISHIKAWA, S.; UENO, T.; SUZUKI, Y.; IWAMI, Y.; TAKAHASHI, N. Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.21, p.283-8, 2006.
135. NAKAJO, K.; NAKAZAWA, F.; IWAKU, M.; HOSHINO, E. Alkali-resistant bacteria in root canal systems. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.19, p.390-4, 2004.
136. NEVES, F.D.; FONES, D.; BERNARDES, S.R.; PRADO, C.J.; NETO A.F.F. Short implants-an analysis of longitudinal studies. **Int. j. Oral Maxillofac. Impl.**, v.21, p.86-93, 2006.
137. NIEDERMAN, R.; THEODOSOPOULOU, J.N. A systematic review of in vivo retrograde obturation materials. **Int. Endod. J.**, v. 36, p. 577-85, 2003.
138. ONCAAG, O.; COGULU, D.; UZEL, A.; SORKUN, K. Efficacy of propolis as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*. **Gen. Dent.**, v.54, p.319-22, 2006.

139. ONCAAG, O.; GOGULU, D.; UZEL, A. Efficacy of various intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* in primary teeth: an in vivo study. **J. Clin. Pediatr. Dent.**, v.30, p.233-7, 2006.
140. ØRSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.6, p.142-9, 1990.
141. OZTAN, M.D.; KIYAN, M.; GERCEKER, D. Antimicrobial effect, in vitro, of gutta-percha points containing root canal medications against yeasts and *Enterococcus faecalis*. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.102, p.410-6, 2006.
142. PABLA, T.; GULATI, M.S.; MOHAN, U. Evaluation of antimicrobial efficacy of various root canal filling materials for primary teeth. **J. Indian. Soc. Pedod. Prev. Dent.**, v.15, p.134-40, 1997.
143. PAISANO, A.F.; SPIRA, B.; CAI, S.; BOMBANA, A.C. In vitro antimicrobial effect of bacteriophages on human dentin infected with *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. **Oral. Microbio. Immunol.**, v.19, p.327-30, 2004.
144. PARSONS, G.J.; PATTERSON, S.S.; MILLER, C.H.; KATZ, S.; KAFRAWY, A.H.; NEWTON, C.W. Uptake and release of chlorhexidine by bovine pulp and dentin specimens and their subsequent acquisition of antibacterial properties. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v.49, p.455-9, 1980.

145. PAVELIC, B.; ANIC, I.; NAJZAR-FELGER, D.; STILINOVIC, B.; TEMMER, K. The antimicrobial efficiency of aqueous solutions of calcium hydroxide on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus faecalis* and *Candida albicans*, in vitro. **Acta Stomatol. Croat.**, v.25, p.207-12, 1991.
146. PECIULIENE, V.; REYNAUD, A.U.; BALCIUNIENE, I.; HAAPASALO, M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. **Int. Endod. J.**, v.34, p.429-34, 2001.
147. PEREIRA, J.V.; BERGAMO, D.C.; PEREIRA, J.O.; FRANCA, S.D.E.C.; PIETRO, R.C.; SILVA-SOUSA, Y.T. Antimicrobial activity of *Arctium lappa* constituents against microorganisms commonly found in endodontic infections. **Braz. Dent. J.**, v.16, p.192-6, 2005.
148. PETITTI, D.B. **Metanalysis, decision analysis, and cost-effectiveness analysis**: methods for quantitative synthesis in medicine. New York: Oxford University Press; 2000.
149. PINHEIRO, E.T.; ANDERSON, M.J.; GOMES, B.P.; DRUCKER, D.B. Phenotypic and genotypic identification of enterococci isolated from canals of root-filled teeth with periapical lesions. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.21, p. 137-44, 2006.
150. PINHEIRO, E.T.; GOMES, B.P.; DRUCKER, D.B.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C.C.; SOUZA-FILHO, F.J. Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus faecalis* isolated from canals of root filled teeth with periapical lesions. **Int. Endod. J.**, v.37, p.756-63, 2004.

151. PINHEIRO, E.T.; GOMES, B.P.; FERRAZ, C.C.; SOUSA, E.L.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. **Int. Endod. J.**, v.36, p.1-11, 2003.
152. PINHEIRO, E.T.; GOMES, B.P.; FERRAZ, C.C.; TEIXEIRA, F.B.; ZAIA, A.A.; SOUZA-FILHO, F.J. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.18, p.100-3, 2003.
153. PIZZO, G.; GIAMMANCO, G.M.; CUMBO, E.; NICOLOSI, G.; GALLINA, G. In vitro antibacterial activity of endodontic sealers. **J. Dent.**, v.34, p.35-40, 2006.
154. PODBIELSKI, A.; BOECKH, C.; HALLER, B. Growth inhibitory activity of gutta-percha points containing root canal medications on common endodontic bacterial pathogens as determined by an optimized quantitative in vitro assay. **J. Endod.**, v.26, p.398-403, 2000.
155. PODBIELSKI, A.; SPAHR, A.; HALLER, B. Additive antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on common endodontic bacterial pathogens. **J. Endod.**, v.29, p.340-5, 2003.
156. PORTENIER, I.; HAAPASALO, H.; RYE, A.; WALTIMO, T.; ØRSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. **Int. Endod. J.**, v.24, p.184-8, 2001.

157. PORTENIER, I.; WALTIMO, T.; ØRSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. **J. Endod.**, v.31, p.380-6, 2005.
158. PORTENIER, I.; WALTIMO, T.M.T.; HAAPASALO, M. *Enterococcus faecalis* – the root canal survivor and ‘star’ in post treatment disease. **Endodontic Topics**, v.6, p.135–159, 2003.
159. RADCLIFFE, C.E.; POTOURIDOU, L.; QURESHI, R.; HABAHBEH, N.; QUALTROUGH, A.; WORTHINGTON, H.; DRUCKER, D.B. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.**, v.37, p.438-46, 2004.
160. RAMSKOLD, L.O.; FONG, C.D.; STROMBERG, T. Thermal effects and antibacterial properties of energy levels required to sterilize stained root canals with an Nd:YAG laser. **J. Endod.**, v.23, p.96-100, 1997.
161. REYNAUD, A.F.; GEIJERSSTAM, A.; SORSA, T.; STACKELBERG, S.; TERVAHARTIALA, T.; HAAPASALO, M. Effect of *Enterococcus faecalis* on the release of serine proteases elastase and cathepsin G, and collagenase-2 (MMP-8) by human polymorphonuclear leukocytes (PMNs). **Int. Endod. J.**, v.38, p.667-77, 2005.
162. REYNAUD, A.F.; GEIJERSSTAM, A.H.; ELLINGTON, M.J.; WARNER, M.; WOODFORD, N.; HAAPASALO, M. Antimicrobial susceptibility and molecular analysis of *Enterococcus faecalis* originating from endodontic

- infections in Finland and Lithuania. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.21, p.164-8, 2006.
163. ROACH, R.P.; HATTON, J.F.; GILLESPIE, M.J. Prevention of the ingress of a known virulent bacterium into the root canal system by intracanal medications. **J. Endod.**, v.27, p.657-60, 2001.
164. RÔÇAS, I.N.; JUNG, I.Y.; LEE, C.Y.; SIQUEIRA-JR, J.F. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. **J. Endod.**, v.30, p.504-8, 2004.
165. RÔÇAS, I.N.; SIQUEIRA-JR, J.F.; ABOIM, M.C.; ROSADO, A.S. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of bacterial communities associated with failed endodontic treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.98, p.741-9, 2004.
166. RÔÇAS, I.N.; SIQUEIRA-JR, J.F.; ANDRADE, A.F.B.; UZEDA, M. Identification of selected putative oral pathogens in primary root canal infections associated with symptoms. **Anaerobe**, v. 8, p. 200-208, 2002.
167. RÔÇAS, I.N.; SIQUEIRA-JR, J.F.; SANTOS, K.R. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. **J. Endod.**, v.30, p.315-20, 2004.
168. RÔÇAS, I.N.; SIQUEIRA-JR, J.F.; SANTOS, K.R.N.; COELHO, A.M.A. "Red complex" (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Treponema denticola*) in endodontic infections: a molecular approach. **O. Surg O. Med. O. Pathol.**, v. 91, p. 468-471, 2001.

169. ROSSI-FEDELE, G.; SCOTT, W.; SPRATT, D.; GULABIVALA, K.; ROBERTS, A.P. Incidence and behaviour of Tn916-like elements within tetracycline-resistant bacteria isolated from root canals. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.21, p.218-22, 2006.
170. SACKS, H.S.; BERRIER, J.; REITMAN, D.; ANCONA-BERK, V.A.; CHALMERS, T.C. Meta-analyses of randomized controlled trials. **N. Engl. J. Med.**, v. 316, p.450-51, 1987.
171. SALEH, I.M.; RUYTER, I.E.; HAAPASALO, M.; ØRSTAVIK, D. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro. **Int. Endod. J.**, v.37, p.193-8, 2004.
172. SANTOS, C.F.; SAKAI, V. T.; MACHADO, M. A. A. M.; SCHIPPERS, D. N.; GREENE, A. S. Reverse transcription and polymerase chain reaction: principles and applications in dentistry. **J. Appl. Oral Sci.**, v. 13, p. 1-11, 2004.
173. SCHAFFER, E.; BOSSMANN, K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.**, v.31, p.53-6, 2005.
174. SCHOOP, U.; KLUGER, W.; DERVISBEGOVIC, S.; GOHARKHAY, K.; WERNISCH, J.; GEORGOPOULOS, A.; SPERR, W.; MORITZ, A. Innovative wavelengths in endodontic treatment. **Lasers Surg. Med.**, v.38, p.624-30, 2006.

175. SEDGLEY, C.; BUCK, G.; APPELBE, O. Prevalence of *Enterococcus faecalis* at multiple oral sites in endodontic patients using culture and PCR. **J. Endod.**, v.32, p.104-9, 2006.
176. SEDGLEY, C.; NAGEL, A.; DAHLÉN, G.; REIT, C.; MOLANDER, A. Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals. **J. Endod.**, v.32, p.173-7, 2006.
177. SEDGLEY, C.M.; LENNAN, S.L.; CLEWELL, D.B. Prevalence, phenotype and genotype of oral enterococci. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.19, p.95-101, 2004.
178. SEDGLEY, C.M.; MOLANDER, A.; FLANNAGAN, S.E.; NAGEL, A.C.; APPELBE, O.K.; CLEWELL, D.B.; DAHLÉN, G. Virulence, phenotype and genotype characteristics of endodontic *Enterococcus* spp. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.20, p.10-9, 2005.
179. SEDGLEY, C.M.; NAGEL, A.C.; SHELBURNE, C.E.; CLEWELL, D.B.; APPELBE, O.; MOLANDER, A. Quantitative real-time PCR detection of oral *Enterococcus faecalis* in humans. **Arch. Oral Biol.**, v.50, p.575-83, 2005.
180. SENA, N.T.; GOMES, B.P.; VIANNA, M.E.; BERBER, V.B.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C.C.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. **Int Endod. J.**, v.39, p.878-85, 2006.

181. SHALHAV, M.; FUSS, Z.; WEISS, E.I. In vitro antibacterial activity of a glass ionomer endodontic sealer. **J. Endod.**, v.23, p.616-9, 1997.
182. SHON, W.; KIM, H.S.; SON, H.H.; LIM, S.; LEE, W. Effects of sonicated *Enterococcus faecalis* extracts on interleukin-2 and interleukin-4 production by human T cells. **J. Endod.**, v.30, p.701-3, 2004.
183. SHUR, A.L.; SEDGLEY, C.M.; FENNO, J.C. The antimicrobial efficacy of 'MGP' gutta-percha in vitro. **Int. Endod. J.**, v.36, p.616-21, 2003.
184. SHURRAB, M.Y. Antimicrobial efficiency of some antiseptic products on endodontic microflora isolated from gangrenous pulp tissue. **J. Contemp. Dent. Pract.**, v.1, p.53-62, 2006.
185. SIPERT, C.R.; HUSSNE, R.P.; NISHIYAMA, C.K.; TORRES, S.A. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. **Int. Endod. J.**, v.38, p.539-43, 2005.
186. SIQUEIRA-JR, J.F.; BATISTA, M.M.; FRAGA, R.C.; UZEDA, M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. **J. Endod.**, v.24, p.414-6, 1998.
187. SIQUEIRA-JR, J.F.; FAVIERI, A.; GAHYVA, S.M.; MORAES, S.R.; LIMA, K.C.; LOPES, H.P. Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. **J. Endod.**, v.26, p.274-7, 2000.
188. SIQUEIRA-JR, J.F.; RÔÇAS, I.N. PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. **J Dentistry**, v.31, p. 333-339, 2003.

189. SIQUEIRA-JR, J.F.; RÔÇAS, I.N. PCR-based identification of *Treponema maltophilum*, *T. amylovorum*, *T. medium*, and *T. lecithinolyticum* in primary root canal infections. **Arch. Oral Biology**, v. 48, p. 495-502, 2003.
190. SIQUEIRA-JR, J.F.; RÔÇAS, I.N. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.97, p.85-94, 2004.
191. SIQUEIRA-JR, J.F.; RÔÇAS, I.N.; FAVIERI, A., OLIVEIRA, J.C.M.; SANTOS, K.R.N. Polymerase chain reaction detection of *Treponema denticola* in endodontic infections within root canals. **Int Endod J**, v. 34, p. 280-284, 2001.
192. SIQUEIRA-JR, J.F.; RÔÇAS, I.N.; FAVIERI, A.; LIMA, K.C. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. **J. Endod.**, v.26, p.331-4, 2000.
193. SIQUEIRA-JR, J.F.; UZEDA, M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. **J. Endod.**, v.22, p.674-6, 1996.
194. SIQUEIRA-JR, J.F.; UZEDA, M. Influence of different vehicles on the antibacterial effects of calcium hydroxide. **J. Endod.**, v.24, p.663-5, 1998.
195. SIQUEIRA-JR, J.F.; UZEDA, M.; FONSECA, M.E. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. **J. Endod.**, v.22, p.308-10, 1996.

196. SIRÉN, E.K.; HAAPASALO, M.P.; RANTA, K.; SALMI, P.; KEROSUO, E.N. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. **Int. Endod. J.**, v.30, p.91-5, 1997.
197. SIRÉN, E.K.; HAAPASALO, M.P.; WALTIMO, T.M.; ØRSTAVIK, D. In vitro antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on *Enterococcus faecalis*. **Eur. J. Oral Sci.**, v.112, p.326-31, 2004.
198. SIWEK, J. Reading and evaluating clinical review articles. **Am. Fam. Physician.**, v.55, p.2064-69, 70, 72, 1997.
199. SIWEK, J.; GOURLAY, M.L.; SLAWSON, D.C.; SHAUGHNESSY, A.F. How to write an evidence-based clinical review article. **Am. Fam. Physician.**, v.65, p.258-58, 2002.
200. SLOTS, J.; ASHIMOTO, A.; FLYNN, M.J.; LI, G.; CHEN, C. Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens by 16S ribosomal DNA amplification with the polymerase chain reaction. **Infect. Dis. Clin. North Am.**, v.20, n. (suppl) 2, p.S304-S307, 1995.
201. SOUKOS, N.S.; CHEN, P.S.; MORRIS, J.T.; RUGGIERO, K.; ABERNETHY, A.D.; SOM, S.; FOSCHI, F.; WILLIAMS, J.M.; TROPE, M.; CAPLAN, D.J.; SHUGARS, D.C. Detection and quantitation of *Enterococcus faecalis* by real-time PCR (qPCR), reverse transcription-PCR (RT-PCR), and cultivation during endodontic treatment. **J. Endod.**, v.32, p.715-21, 2006.

202. SOUKOS, N.S.; CHEN, P.S.; MORRIS, J.T.; RUGGIERO, K.; ABERNETHY, A.D.; SOM, S.; FOSCHI, F.; DOUCETTE, S.; BAMMANN, L.L.; FONTANA, C.R.; DOUKAS, A.G.; STASHENKO, P.P. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. **J. Endod.**, v.32, p.979-84, 2006.
203. SPÅNGBERG, L.; ENGSTROM, B.; LANGELAND, K. Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v.36, p.856-71, 1973.
204. SPERANCA, P.A.; BIRAL, R.R.; VALDRIGHI, L.; RANALI, J. Calcium hydroxide cement. Verification of the influence of contact time on antimicrobial action against *S. faecalis*. In vitro study. **Rev. Gaucha Odont.** v.36, p.451-3, 1988.
205. STEVENS, R.H.; GROSSMAN, L.I. Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament, **J. Endod.** v.9, p.372-4, 1983.
206. STUART, C.H.; SCHWARTZ, S.A.; BEESON, T.J.; OWATZ, C.B. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. **J. Endod.**, v.32, p.93-8, 2006.
207. SUKAWAT, C.; SRISUWAN, T. A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.**, v.28, p.102-4, 2002.
208. SUNDQVIST, G. Associations between microbial species in dental root canal infections. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 7, p. 257-262, 1992.

209. SUNDQVIST, G. **Bacteriological studies of necrotic dental pulps.** (Dissertation Master). Umea: University of Umea, Sweden; 1976. 94p.
210. SUNDQVIST, G.; ECKERBOM, M.I.; LARSSON, A.P.; SJÖGREN, U.T. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. **Infec. Immun.**, v.25, p.685-693, 1979.
211. SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D. Life an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and the root-filled root canals. **Endodon. Topics**, v.6, p.3-28, 2003.
212. SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D.; PERSSON, S.; SJÖGREN, U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.85, p.86-93, 1998.
213. TANRIVERDI, F.; ESNER, T.; ERQANIS, O.; BELLI, S. An in vitro test model for investigation of disinfection of dentinal tubules infected with *Enterococcus faecalis*. **Braz. Dent. J.**, v.8, p.67-72, 1997.
214. THOMAS, P.A.; BHAT, K.S.; KOTIAN, K.M. Antibacterial properties of dilute formocresol and eugenol and propylene glycol. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v.49, p.166-70, 1980.
215. TIMPAWAT, S.; AMORNCHAT, C.; TRISUWAN, W.R. Bacterial coronal leakage after obturation with three root canal sealers. **J. Endod.**, v.27, p.36-9, 2001.

216. TRONSTAD, L.; ANDREASSEN, J.O.; HASSELGREN, G.; KRISTERSON, L.; RIIS, I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. **J. Endod.**, v.7, p.17-21, 1981.
217. TROPE, M.; DELANO, O.; ØRSTAVIK, D. Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment. **J. Endod.**, v.25, p.345-50, 1999.
218. TURNER, S.R.; LOVE, R.M.; LYONS, K.M. An in vitro investigation of the antibacterial effect of nisin in root canals and canal wall radicular dentine. **Int. Endod. J.**, v.37, p.664-71, 2004.
219. VIANNA, M.E.; GOMES, B.P.; BERBER, V.B.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C.C.; DE SOUZA-FILHO, F.J. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.97, p.79-84, 2004.
220. VIANNA, M.E.; GOMES, B.P.; SENA, N.T.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C.C.; SOUZA FILHO, F.J. In vitro evaluation of the susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide combined with different vehicles. **Braz. Dent. J.**, v.16, p.175-80, 2005.
221. VIVACQUA-GOMES, N.; GURGEL-FILHO, E.D.; GOMES, B.P.; FERRAZ, C.C.; ZAIA, A.A.; SOUZA-FILHO, F.J. Recovery of *Enterococcus faecalis* after single- or multiple-visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. **Int. Endod. J.**, v.38, p.697-704, 2005.

222. WALTIMO, T.M.; ØRSTAVIK, D.; SIRÉN, E.K.; HAAPASALO, M.P. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. **Int. Endod. J.**, v.32, p.241-9, 1999.
223. WATANABE, K.; FROMMEL, T.O. *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola* detection in oral plaque samples using the polymerase chain reaction. **J. Clin. Periodontol.**, v.23, p.212-219, 1996.
224. WEIGER, R.; LUCENA, J.; DECKER, H.E.; LOST, C. Vitality status of microorganisms in infected human root dentine. **Int. Endod. J.**, v.35, p.166-71, 2002.
225. WEISS, E.I.; SHALHAV, M.; FUSS, Z. Assessment of antibacterial activity of endodontic sealers by a direct contact test. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.12, p.179-84, 1996.
226. WILLIAMS, J.M.; TROPE, M.; CAPLAN, D.J.; SHUGARS, D.C. Detection and quantification of *Enterococcus faecalis* by real-time PCR (qPCR), reverse transcription-PCR (RT-PCR), and cultivation during endodontic treatment. **J. Endod.**, v.32, p.715-21, 2006.
227. ZAPPA, U.; REINKING-ZAPPA, M.; GRAF, H.; GMUR, R.; SAVITT, E. Comparison of serological and DNA probe analysis for detection of suspected periodontal pathogens in subgingival plaque samples. **Arch. Oral Biol.**, v.35, p.161s-164s, 1990.

228. ZBIDI, N.D.; ZAKI, A.; ZOUITEN, S.; BOUGHZALA, A.; BACCOUCHE, C. Prevalence of endodontic yeasts in periapical infections. **Odontostomatol. Trop.**, v.28, p.5-12, 2005.
229. ZEHNDER, M.; GRAWERHR, M.; HASSELGREN, G.; WALTIMO, T. Tissue-dissolution capacity and dentin-desinfecting potential of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. **Oral Surg. Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.** v.96, p.608-13, 2003.
230. ZEHNDER, M.; LUDER, H.U.; SCHATZLE, M.; KEROSUO, E.; WALTIMO, T. A comparative study on the disinfection potentials of bioactive glass S53P4 and calcium hydroxide in contra-lateral human premolars ex vivo. **Int. Endod. J.**, v.39, p.952-8, 2006.
231. ZEHNDER, M.; SCHMIDLIN, P.; SENER, B.; WALTIMO, T. Chelation in root canal therapy reconsidered. **J. Endod.**, v.31, p.817-20, 2005.
232. ZEHNDER, M.; SODERLING, E.; SALONEN, J.; WALTIMO, T. Preliminary evaluation of bioactive glass S53P4 as an endodontic medication in vitro. **J. Endod.**, v.30, p.220-4, 2004.
233. ZERELLA, J.A.; FOUAD, A.F.; SPÅNGBERG, L.S. Effectiveness of a calcium hydroxide and chlorhexidine digluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.100, p.756-61, 2005.

234. ZOLETTI, G.O.; SIQUEIRA-JR, J.F.; SANTOS, K.R. Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and-independent approaches. **J. Endod.**, v.32, p.722-6, 2006.



ANEXOS

Tabela 5 – Distribuição de artigos científicos publicados em função de periódicos de maior impacto em endodontia, analisadas de acordo com o modelo biológico *in vivo* e o método de identificação bacteriana (1966/2006) (Anexo 1)

Periódico	Humanos	Animais	Cultura	PCR
Dental Traumatology	1	1	1	-
International Endodontic Journal	3	-	3	-
Journal of Endodontics	7	-	2	7
Oral Surg Oral Med Oral Pathol				
Oral Radiology and Endodontology	6	-	3	4
Outros	14	3	10	6
Total	31	4	19	17

Tabela 6 - Distribuição de artigos científicos publicados em função de periódicos de maior impacto em endodontia, analisadas de acordo com o delineamento experimental *in vitro* (1966 / 2006) (Anexo 2)

Periódicos	<i>In vitro</i>				
	TDA	TCD	UFC	DC	Outros
Dental Traumatology	1	1	1	2	-
International Endodontic Journal	4	11	9	16	4
Journal of Endodontics	13	13	9	27	2
Oral Surg Oral Med Oral Pathol	2	5	3	8	2
Oral Radiology and Endodontology					
Outros	8	14	3	12	6
Total	28	44	25	65	14

Legenda:

- TDA - Teste de difusão em Agar
- TCD - Teste por contato direto
- UFC - Unidade formadora de colônia
- DC - Dentina contaminada