

UNIVERSIDADE DE UBERABA

GABRIELY ALESSANDRA OLIVEIRA SILVA

MARIA BETHÂNIA PIMENTA DA COSTA

**EFETIVIDADE DO HIDRÓXIDO DE CÁLCIO, CLOREXIDINA E
ASSOCIAÇÃO COMO MEDICAÇÃO INTRACANAL CONTRA
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

Uberaba – MG

2017

GABRIELY ALESSANDRA OLIVEIRA SILVA

MARIA BETHÂNIA PIMENTA DA COSTA

**EFETIVIDADE DO HIDRÓXIDO DE CÁLCIO, CLOREXIDINA E
ASSOCIAÇÃO COMO MEDICAÇÃO INTRACANAL CONTRA
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Universidade de Uberaba como parte da conclusão da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II do curso de Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Benito André Silveira Miranzi.

Uberaba - MG

2017

S38e Silva, Gabriely Alessandra Oliveira.
Efetividade do hidróxido de cálcio, clorexidina e associação como
medicação intracanal contra enterococcus faecalis / Gabriely Alessandra
Oliveira Silva, Maria Bethânia Pimenta da Costa. – Uberaba, 2017.
24 f.

Trabalho de Conclusão de Curso -- Universidade de Uberaba. Curso
de Odontologia, 2017.

Orientador: Prof. Dr. Benito André Silveira Miranzi.

1. Endodontia – Tratamento. 2. Canal radicular – Tratamento. 3.
Hidróxido de cálcio. 4. Enterococcus. I. Costa, Maria Bethânia Pimenta
da. II. Universidade de Uberaba. Curso de Odontologia. III. Título.

CDD 617.634 2

Ficha elaborada pela bibliotecária Tatiane da Silva Viana CRB6-3171

**GABRIELY ALESSANDRA OLIVEIRA SILVA
MARIA BETHÂNIA PIMENTA DA COSTA**

**EFETIVIDADE DO HIDRÓXIDO DE CÁLCIO, CLOREXIDINA E
ASSOCIAÇÃO COMO MEDICAÇÃO INTRACANAL CONTRA
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado a Universidade de Uberaba
como parte da conclusão da disciplina de
Trabalho de Conclusão de Curso II do curso
de Odontologia.

Área de concentração: Endodontia

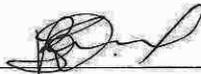
Aprovado em: / /

BANCA EXAMINADORA:



Prof.º Dr. Benito André Silveira Miranzi - Orientador

Universidade de Uberaba



Prof.º Dr. Renata Oliveira Samuel

Universidade de Uberaba

RESUMO

O tratamento endodôntico é um procedimento realizado quando a polpa dental é exposta ou infectada por microrganismos. Para promover a redução desses microrganismos são indicados o preparo químico mecânico e medicação intracanal que agem mudando as condições do meio e combatendo a proliferação das bactérias presentes. Dentre esses medicamentos, o hidróxido de cálcio e a clorexidina mostram resultados satisfatórios, devido sua capacidade bactericida. O objetivo deste projeto será de analisar o efeito antimicrobiano da clorexidina e do hidróxido de cálcio e sua associação contra a bactéria *Enterococcus faecalis*; uma bactéria gram positiva facultativa. Estudos mostram que ela é resistente ao hidróxido de cálcio e sensível a clorexidina. Busca-se esclarecer a verdadeira eficácia antimicrobiana destes medicamentos no interior dos canais radiculares. Diante deste fato, o presente trabalho será revisar a literatura no período de 2010 a 2016 sobre os achados científicos que descrevem as medicações intracanaís, focando principalmente na eficácia do hidróxido de cálcio e clorexidina e sua associação como medicamento intracanal. Foram utilizados como fonte de pesquisa principal o PUBMED, GOOGLE ACADÊMICO E LILACS. No entanto, a combinação do hidróxido de cálcio com a clorexidina 2% apresentou melhoras quando utilizados juntamente.

Palavras-chave: Tratamento Endodôntico. Medicação intracanal. Sistema de Canais Radiculares. Hidróxido de Cálcio. Clorexidina. *Enterococcus faecalis*.

ABSTRACT

The endodontic treatment is a menstruation when the dental pulp is exposed or infected by microorganisms. To promote a reduction of the microorganisms, are indicated a mechanical chemical preparation and intracanal medication that act by changing as medium conditions and combating a proliferation of the bacteria present. Among these drugs, calcium hydroxide and chlorhexidine show satisfactory results due to their bactericidal capacity. The objective of this project is to analyze the antimicrobial effect of chlorhexidine and calcium hydroxide and its association against the bacterium *Enterococcus faecalis*; An optional gram positive bacterium. Studies show that it is resistant of the calcium hydroxide and sensitive to chlorhexidine. The aim is to clarify the true antimicrobial efficacy of the drugs inside the root canals. In view of this fact, the present work will review the literature from 2010 to 2016 on scientific findings describing intracanal medicinal products, focusing mainly on the efficacy of calcium hydroxide and chlorhexidine and their association as intracanal medication. Pubmed, Google Scholar and Lilacs were used as the main research source. However, a combination of calcium hydroxide and a 2% chlorhexidine showed improvement when consumed.

Keywords: Endodontic treatment. Intracanal medication. Root Canal System. Calcium hydroxide. Chlorhexidine. *Enterococcus faecalis*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 REVISÃO DE LITERATURA	8
3 OBJETIVO	13
4 METODOLOGIA	14
5 DISCUSSÃO	15
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	18
REFERÊNCIAS	19

1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico é um procedimento que promove a diminuição da população bacteriana que infeccionam o sistema de canais radiculares (HAMIDI et al., 2012). As bactérias que infectam esses canais geram e perpetuam doenças pulpares e lesões periapicais (JAVIDI et al., 2011). Dentre algumas bactérias destaca-se o *Enterococcus faecalis*, uma bactéria gram positiva anaeróbica facultativa, cuja virulência se dá graças a sua resistência aos medicamentos intracanalais, tornando a principal responsável por falhas persistentes dos tratamentos endodônticos (BAZVAND et al., 2014). Além disso, ela pode aderir a dentina, invadir os túbulos dentinários e causar doenças periapicais severas (JAVIDI et al., 2011, BARBOSA-RIBEIRO et al., 2016)

Alguns critérios são de principal importância para se obter o controle e a prevenção da infecção, podendo levar ao insucesso do tratamento (JAVIDI et al., 2011). O preparo químico mecânico juntamente com a ação da medicação intracanal e a obturação hermética dos canais radiculares são os mecanismos mais utilizados para promover a desinfecção e evitar a reinfecção (HAMIDI et al., 2012). Diversos fatores contribuem para esse insucesso como a instrumentação inadequada, irrigação insuficiente, falta de habilidade do profissional, podendo causar deformações como *zip* e *elbow* no interior dos canais, fratura de limas ou brocas, além de falhas na obturação. Os exames radiográficos e a tomografia exercem um papel de fundamental importância durante todo o tratamento para que o profissional acompanhe e possa identificar possíveis falhas (HAMIDI et al., 2012). Ricucci et al., (2011) constataram que procedimentos na polpa viva tem maior índice de sucesso com relação a polpa necrosada, devido a presença de menor quantidade de bactérias. Um tratamento de biopulpectomia quando concluído em uma única sessão é mais favorável pois o risco de proliferação das bactérias é diminuído (BAZVAND et al., 2014). A medicação intracanal é utilizada para combater as bactérias e impedir a proliferação das mesmas, criando uma barreira físico químico, evitando a reinfecção (HAMIDI et al., 2012).

Dentre os medicamentos intracanalais, a clorexidina é uma solução bastante utilizada durante o tratamento endodôntico podendo ser usada tanto como solução irrigante, quanto como medicação intracanal (FARIA et al., 2014). Ela atua contra bactérias gram positivas e gram negativas e possui amplo espectro de atividade antimicrobiana, biocompatibilidade e substantividade promovendo assim boa atuação contra micro-organismos persistentes (SCHIRRMEISTER et al., 2013). Além disso, a clorexidina mesmo utilizada em baixa concentração mostra resultados favoráveis contra infecções endodônticas mais comuns (FREIRE et al., 2010).

Por outro lado, o hidróxido de cálcio também é um excelente medicamento intracanal por possuir efeito bactericida eficiente, apresentar boa dissolução de restos orgânicos, alta alcalinidade, efeitos anti-inflamatórios e capacidade de devolver as condições normais ao periápice. Quando utilizado, este deve ser removido completamente do canal radicular antes de obturá-lo, pois ele dificulta a penetração de cimentos nos túbulos dentinários diminuindo a adesão do cimento obturador à dentina promovendo uma vedação hermética no sistema de canal radicular. Porém, o hidróxido de cálcio não apresenta resultados satisfatórios contra bactérias resistentes como o *Enterococcus faecalis*, assim associou-se a clorexidina para o combate dessa bactéria apresentando melhores resultados (JAVIDI et al., 2011). Esta associação da clorexidina com o hidróxido de cálcio tem como objetivo aumentar a ação antibacteriana do hidróxido de cálcio elevando seu pH favorecendo a eliminação dos microorganismos mais resistentes. (FREIRE et al., 2010).

Contudo, o hidróxido de cálcio e a clorexidina utilizados juntos tem melhor eficiência, pois o efeito antimicrobiano é maior que isoladamente. A finalidade desse estudo é avaliar o poder bactericida e os efeitos da combinação dessas medicações contra a bactéria agressiva *Enterococcus faecalis*. (FREIRE et al., 2010).

2 REVISÃO DE LITERATURA

É certo que a terapia endodôntica possui como objetivo principal a supressão de bactérias do sistema de canais radiculares. Em que pese este objetivo e aplicação de procedimentos de desinfecção do sistema de canais radiculares durante o tratamento endodôntico, microrganismos, especialmente *Enterococcus Faecalis*, podem persistir no seio do sistema de canais radiculares e sustentar a presença de periodontite apical (KOMOROWSK et al., 2000).

Estrela et al., (2003) destacam que o êxito do tratamento endodôntico se correlaciona à extinção de microrganismos presentes nos canais infectados. Desta forma, o emprego de substâncias que contribuam para a erradicação dos microrganismos são motivadores no alcance do sucesso do tratamento.

A bactéria Gram-positiva *Enterococcus Faecalis* apresenta elevado grau de resistência a uma ampla série de agentes antimicrobianos, bem como é uma das raras bactérias facultativas associadas com a persistência da periodontite apical. O emprego de medicação intracanal é um complemento relevante como objetivo de excluir microrganismos, os quais, ainda possuem potencial de subsistir no sistema dos canais radiculares mesmo após o preparo químico-mecânico. É notório na literatura que o hidróxido de cálcio amplia os níveis do pH colaborando para a fenecimento dos microrganismos, haja vista estes não serem capazes de subsistir em meios alcalinos. (LIMA et al., 2001).

Valera et al., (2009) utilizaram seis canais radiculares que foram infectados com *Enterococcus Faecalis* e *Cândida Albicans* por 21 dias e em seguida instrumentados com 1% de NaOCl. As raízes foram divididas em 3 grupos (n = 12) de acordo com a medicação intracanal aplicada: pasta de hidróxido de cálcio, 2% e clorhexidina (CHX) gel e 2% de CHX gel associada com hidróxido de cálcio. Foram realizadas a partir dos canais radiculares, quais sejam: a) amostra inicial (IS): 21 dias após a contaminação (controle), b) S1: após a instrumentação, c) S2: 14 dias após a colocação da medicação intracanal; S3: 7 dias após a remoção da medicação intracanal. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com nível de significância de 5%. Os procedimentos apresentaram que tanto a irrigação de NaOCl a 1% como os medicamentos intracanaís foram efetivos na eliminação de *E. faecalis* e *C. albicans* inoculados em canais radiculares.

Destaca-se ainda trabalho de Evans M et al., (2003) que pesquisaram os mecanismos relacionados na resistência do *Enterococcus Faecalis* ao elevado pH do hidróxido de cálcio.

A pesquisa de Evans M et al., (2003) avaliaram a eficácia antibacteriana de uma medicação intracanal composta de hidróxido de cálcio com 2% de clorexidina. Para tanto utilizou-se dentina de 24 incisivos bovinos. Os incisivos foram feitos em segmentos cilíndricos padronizados de dentina e infectados com *Enterococcus faecalis*, sendo tratados com uma pasta intracanal composta de hidróxido de cálcio e água estéril ou uma pasta intracanal composta de hidróxido de cálcio e 2% de clorexidina durante 1 semana. As aparas de Dentin foram coletadas, suspensas em solução e espalhadas sobre agar de infusão de cérebro e coração. Posterior à incubação, as unidades formadoras de colônias foram enumeradas e determinada a quantidade de bactérias por mg de dentina. A pasta de hidróxido de cálcio com 2% de clorexidina foi significativamente mais efetiva na extinção de *E. faecalis* nos túbulos dentinários do que o hidróxido de cálcio com água

O trabalho dos supracitados autores ainda revelaram :

1. Exposição a pH 11,5 ou maior - observa-se a morte do *Enterococcus Faecalis*;
2. Exposição a pH menor de 11.5 - a bactéria evidenciou pro atividade de sobrevivência;
3. Em virtude do efeito tamponado da dentina, é inverossímil que o alto pH do hidróxido de cálcio seja granjeado quando dentro dos túbulos dentinários onde o *Enterococcus Faecalis* possua pro atividade de penetrar in vitro profundamente.

A pesquisa de Sukawat e Srisuwan (2002) colacionou a efetividade de três pastas de hidróxido de cálcio como antisséptico da dentina humana experimentalmente infectada com *Enterococcus Faecalis*, a qual, no espaço sete dias de exposição, apenas a pasta de hidróxido de cálcio com PMCC eliminou a bactéria dos túbulos dentinários e, as pastas de hidróxido de cálcio com água destilada ou com clorexidina a 0,2% foram ineficazes nesse sentido.

Maia Filho et al., (2008) relataram que em teste de difusão em Agar utilizando as substâncias: extrato de própolis produzido pelas abelhas *Scaptotrigona* sp., hipoclorito de sódio 5%, hidróxido de cálcio e gel de clorexidina 2% cultivou *Enterococcus Faecalis* e, a pesquisa apresentou que o Ca(OH)_2 apresentou atividade contra *Enterococcus Faecalis*. No que tange à clorexidina, esta exibiu maior efetividade na eliminação de *Enterococcus Faecalis* que o hidróxido de cálcio.

Gondim et al., (2012) afirmaram que através de estudo com trinta e dois dentes com polpa necrótica observou vinte dentes apresentando radiografia visível de furca / lesão periapical, sendo os mesmos tratados com pastas de hidróxido de cálcio preparadas com polietileno glicol ou clorexidina. O estudo supracitado, após 30 dias com medicação e aplicação de uma terceira coleta onde as amostras foram processadas utilizando qRT-PCR demonstrou ser o hidróxido de cálcio, o medicamento de primeira escolha, principalmente em dentes com polpa necrosada, por possuir alto pH(em torno de 12,5) e, assim, promover uma ótima atividade bacteriana e por ter capacidade de

inibir as endotoxinas das bactérias. Contudo notou-se que o hidróxido não possui boa efetividade em determinadas bactérias mais agressivas como o *Enterococcus Faecalis*. Desta forma, os supramencionados autores elegem a clorexidina como medicamento de escolha por possuir amplo espectro de atividade contra diversos microorganismos orais.

Hamidi MR et al., (2012) relataram que em pesquisa com setenta dentes anteriores maxilares extraídos foram divididos em três grupos experimentais (n = 20). Todos os canais radiculares foram instrumentados com técnica passo a passo e divididos em três grupos. O Grupo 1 apresentava curativo de canal radicular com hidróxido de cálcio; O grupo 2 tinha curativo de canal radicular com 1% de gel de clorexidina e grupo 3, não recebeu um curativo. As raízes foram incubadas em 100% de umidade a 37 ° C durante 7 dias. Após a remoção dos curativos, todos os canais dos grupos experimentais foram obturados usando uma técnica de condensação lateral a frio. As superfícies radiculares de todos os espécimes foram revestidas com duas camadas de verniz de unhas, com exceção dos 2 mm que rodeiam o forame apical. A capacidade de vedação apical foi avaliada por método de fuga de corante e os espécimes foram examinados sob um microscópio estéreo. As penetrações de tintura foram medidas e analisadas usando ANOVA e teste post-hoc de Tukey.

Os supramencionados autores revelaram ao final que o grupo de hidróxido de cálcio apresentou a menor frequência de vazamento apical a um nível de 2 mm ($0,46 \pm 0,40$ mm), enquanto que o grupo de clorexidina apresentou maior vazamento apical ($0,86 \pm 0,42$ mm). Houve diferença estatística entre o grupo 1 e 2 ($P < 0,05$), mas nenhuma diferença estatística entre o grupo 1 e 3, ou entre os grupos 2 e 3 ($P > 0,05$).

Destarte o trabalho supracitado demonstra que o medicamento intracanal de hidróxido de cálcio pode diminuir o vazamento apical de enchimentos de raízes de gutta percha quando o selante AH26 é utilizado; A clorexidina pode aumentar o vazamento.

Bazyand et al., (2014) por meio de investigação com noventa dentes extraídos em um modelo de bloco de dentina, sendo que setenta e cinco se encontravam infectados com *Enterococcus Faecalis* forma divididos em quatro grupos experimentais (n = 15). Estes grupos foram tratados com mistura triantibiótica com água destilada, 0,2% de gel de clorexidina, 70% de etanol + própolis e Aloe vera. Quinze dentes tratados com água destilada como controle positivo e 15 amostras, livres de contaminação bacteriana, foram considerados como o controle negativo. A broca Glates-Glidden # 4 foi usada para a remoção da dentina superficial e a broca Glates-Glidden # 5 foi usada para coletar amostras de dentina profunda. As amostras foram preparadas e as unidades formadoras de colônias foram contadas. Os dados foram analisados por ANOVA unidirecional e testes Tukey post hoc. O significado estatístico foi definido em $P < 0,05$.

O resultado da investigação demonstrou que o grupo de mistura triantibiótica apresentou o menor crescimento bacteriano. Contudo, a taxa de crescimento bacteriano não apresentou diferenças significativas entre grupos de clorexidina e própolis ($P > 0,05$). Aloe vera teve efeitos antibacterianos sobre *Enterococcus Faecalis*, mas em comparação com outros medicamentos, foi menos eficaz ($P < 0,05$).

Os estudiosos Javidi, M.; Zarei, M.; Afkhami, F., (2011) relatam estudo com trinta e seis dentes humanos de rora simples os quais foram contaminados com *Enterococcus Faecalis*. Destes, trinta do grupo experimental foram tratados com 10% de Ca(OH)_2 e; seis espécimes com solução salina normal com controle positivo ($n = 6$). As amostras do grupo experimental foram divididas subdivididas em dois subgrupos de 15 cada, sendo que no subgrupo A, os espécimes foram incubados e amostrados após um dia e no subgrupo B, foram testados no 7º dia. Pontos de papel e Gates Glidden foram usadas objetivando obter a *Enterococcus Faecalis* intraluminal e intratubular. As amostras obtidas a partir destas preparações do canal radicular foram analisadas quanto à carga bacteriana contando o número de unidades formadoras de colônias (UFC). Mann-Whitney e t-test foram utilizados para análise.

Ressalta-se que no trabalho supramencionado, o subgrupo B apresentou diminuição significativa nas UFC em comparação com o grupo A com ambos os métodos de amostragem ($P < 0,001$). Não foram observadas diferenças entre as propriedades antimicrobianas de Ca(OH)_2 contra *E. faecalis* intraluminal e intratubular. Após 1 semana, houve uma redução significativa na carga de CFU com medicação intra-canal de Ca(OH)_2

O estudo de Bhandari et al., (2014) com cento e vinte dentes anteriores extraídos humanos decorados abaixo de CEJ e a parte apical da raiz removida para obter 6mm do meio da raiz. GG no 3 foi utilizado para padronizar o diâmetro interno do canal radicular. Os blocos de Dentin foram infectados com *E faecalis* por 21 dias. Foram atribuídos em quatro grupos ($n = 30$). Grupo 1, solução salina (controle negativo); Grupo 2, Própolis; Grupo 3, 2% CHX; Grupo 4, hidróxido de cálcio. Ao final de 1, 3 e 5 dias, uma avaliação das células microbianas foi realizada a uma profundidade de 400 μm e as contagens de colônia foram calculadas. Os dados foram analisados estatisticamente com a análise de variância unidirecional seguida Pelo teste de comparação múltipla Scheffe ($p < 0,05$).

O resultado do trabalho supradito apresentou um número de unidades formadoras de colônias significativamente menor em todos os grupos experimentais em comparação com o grupo controle, a saber:

- - 2% Clorexidinegluconato produziu melhor eficácia antimicrobiana (100%) no dia 1, 3 e 5.;

➤ O propóleos (66,37%) apresentou maior atividade antimicrobiana do que o hidróxido de cálcio (50,89%) no primeiro dia, mas não houve diferença significativa em suas atividades antimicrobianas no dia 3 e 5 dias.

3 OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi analisar através de uma revisão de literatura a efetividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio e da clorexidina e a combinação desses como medicação intracanal principalmente contra a bactéria *Enterococcus faecalis*.

4 METODOLOGIA

A metodologia apresentada nesta revisão sistemática foram utilizados os seguintes bancos de dados como PUBMED, GOOGLE ACADÊMICO E LILACS sobre o tema proposto e os descritores: tratamento endodôntico, medicação intranacal, sistema de canais radiculares, hidróxido de cálcio, clorexidina. Foram selecionados artigos na língua inglesa e portuguesa nos últimos 10 anos.

5 DISCUSSÃO

A literatura apresenta quantidade de pesquisas relativas aos medicamentos aplicados na supressão *Enterococcus Faecalis* no interior do sistema de canais radiculares, dentre estes se apresenta o hidróxido de cálcio, a clorexidina e sua associação (pasta).

Destaca-se que *Enterococcus* são bactérias gram-positivas, de catalase negativa sem formação de esporos, anaeróbias facultativas, normalmente dispõem-se aos pares e em curtas cadeias. Pertencem a um grupo de organismos conhecidos como bactérias do ácido láctico (LAB) (FISHER et al., 2009). Ademais, possuem capacidade de sobrevivência em grandes níveis de stress e ambientes hostis, como temperaturas entre os 5-65°C, valores de pH entre 4.6-9 e também altas concentrações de sais (6,5%NaCl), bem como pertencem ao grupo D de Lancefield, cujo anfigênio é o ácido lipoteicóico (LTA) encontrado em quase todas as bactérias Gram positivas. Produzem leucina aminopeptidase (LAP) e não possuem enzimas citocromos (PORTENIER et al., 2003, WANDA et al., 2000).

A bactéria *Enterococcus* possui capacidade de crescimento entre os 5 e 50°C, sendo a sua temperatura ótima 42.7°C em condições aeróbicas, apesar de seu desenvolvimento poder também ocorrer em atmosferas anaeróbicas. *Enterococcus faecalis* consegue mesmo sobreviver durante 30 minutos em temperaturas que rondam os 60°C, capacidade que os distingue dos *Streptococcus*.

E.faecalis desenvolve-se num intervalo de pH entre 4.6 e os 9., sendo o seu pH ótimo de 7.5, esta resistência deve-se a durabilidade e impermeabilidade da membrana aos ácidos. Acrescenta-se suporta a presença de 40% de sais biliares e cresce em elevadas concentrações salinas (6.5% NaCl) (NAKAJO et al., 2006). Agrega-se que na fase de crescimento a variável crucial é mesmo o pH, enquanto que a temperatura e a concentração em sal têm importância menor, diversamente na fase estacionária esta bactéria apresenta maior resistência ao calor. Além disso, *E.faecalis* pode tornar-se menos sensível a níveis letais de sulfato de sódio, à hiperosmolaridade, ao etanol e peróxido de hidrogênio (OGIER et al., 2008, STUART et al., 2006).

Os fatores determinantes da virulência de *Enterococcus faecalis* são variados, como é o caso da capacidade de colonizar o trato gastrointestinal, a aderência ao epitélio do trato urinário, da cavidade oral e às células embrionárias dos rins. Em razão da maioria das infecções serem endógenas, estas acontecem por translocação da bactéria entre as células epiteliais através do intestino, o que por conseguinte origina uma infecção dos nódulos linfáticos e posteriormente disseminação por todas as células do corpo (OMAR et al., 2004).

Kayaoglu et al., (2004) relataram que *Enterococcus faecalis* tem sido mencionada como uma das fundamentais causas microbianas dos fracassos em tratamentos endodônticos. Por vezes, podem ser isolados em baixos níveis na mucosa oral de indivíduos saudáveis, contudo sua frequência ocorre com prevalência em estado de infecção. Esta bactéria persiste em periodontites, abscessos periradiculares e especialmente em canais radiculares obturados, além de serem esporadicamente encontradas em peri-implantites.

No que tange a distribuição da espécie na mucosa oral ou nas infecções orais profundas, esta é congênere às infecções verificadas em outras partes do corpo. Por ser um microorganismo oportunista, comumente ocorre em pacientes imunodeprimidos e na maioria das vezes internados (DAHLÉN et al., 2012).

Destaca-se ser esta infecção um transtorno no tratamento de dentes comprometidos endodonticamente, haja vista ser uma bactéria muito resistente às substâncias químicas utilizadas nos procedimentos de limpeza e desinfecção dos canais obturados. *E.faecalis* está quase sempre relacionada com o insucesso do tratamento endodôntico (GOMES et al., 2008). Quando estes microorganismos e os seus produtos estão presentes no sistema de canais radiculares, ocorre uma difusão em direção à polpa, levando à inflamação e necrose da mesma. Estes aderem à cavidade pulpar formando biofilmes e logo após invadem os tecidos periapicais. Posterior à invasão ocasionam a destruição tecidular e, conseqüentemente o desenvolvimento de lesões (SIQUEIRA et al., 2009).

As infecções por *E.faecalis* são em grande parte assintomáticas e duradouras em virtude da capacidade de sobrevivência desta espécie por extensos períodos de tempo em canais radiculares obturados. No decurso da invasão tecidular, os *Enterococcus* modelam a expressão de fatores de virulência, cuja transcrição de genes é ativada caso seja necessário, nomeadamente em ambientes com limitada disponibilidade de nutrientes. Ademais, estes microorganismos possuem capacidade de suprimir a ação dos linfócitos, potenciando a sua persistência na patologia endodôntica (BASRANI et al., 2003, BURLEY et al., 2012).

Nacif et al. (2010); Zehnder (2006) ressaltam que esta bactéria apresenta resposta ao pH alcalino, adaptando-se através da bomba de prótons capaz de acidificar o citoplasma bacteriano, este processo justifica a sua resistência a medicamentos intracanalais à base de hidróxido de cálcio. O fármaco que é muito recorrente, a cloroexidina, é utilizado mundialmente com objetivo de prevenir a placa bacteriana e atualmente como medicação intracanal. Esta molécula é reconhecida pela sua ampla atividade antimicrobiana e baixa citotoxicidade, razão pela qual tem sido proposta a sua utilização na irrigação de canais radiculares durante o tratamento endodôntico, embora *E.faecalis* exiba, também, resistência a este composto.

Na atualidade o hidróxido de cálcio é considerado a medicação intracanal de escolha por apresentar propriedades como: a) controle microbiano, b) dissolução de restos orgânicos, c) poder antiinflamatório, d) inibição de reabsorções inflamatórias (LOPES; SIQUEIRA, 2004).

Entretanto, microorganismos específicos, especialmente *Enterococcus faecalis*, têm-se mostrado resistentes ao Ca(OH)_2 (HAAPASALO & ORSTAVIK 1990 ; WALTIMO et al., 1999) bem como, a eficácia antimicrobiana das pastas a longo prazo tem sido questionada (PETERS et al., 2002). Destarte, pesquisas foram desenvolvidas acrescentando veículos com propriedades antimicrobianas associadas ao hidróxido de cálcio objetivando aumentar esta atividade, sem perder suas demais características (VIVACQUA-GOMES et al., 2002; GOMES et al., 2009).

Ressalta-se que a clorexidina (CHX) tem um elemento catiônico, fator que altera a parede celular da bactéria, tornando o equilíbrio osmótico da célula confuso. A clorexidina é considerada de amplo espectro como agente antimicrobiano (Miranda, 2010) , possuindo ação bacteriostática em concentrações baixas e ação bactericida em concentrações elevadas (FERRAZ , 2007).

Relativamente às vantagens da associação do hidróxido de cálcio com a clorexidina, as principais são: a) ação antimicrobiana superior que da pastas Ca(OH)_2 sem veículos biologicamente ativos (Gomes et al., 2006); b) pH próximo a 13 (Gomes et al., 2006; Souza-Filho et al., 2008) c) substantividade (Vivacqua-Gomes et al., 2002) d) melhor barreira físico-química que a da clorexidina gel 2% (Gomes et al., 2006); e) inativação das endotoxinas presentes na parede celular de bactérias gram-negativas, que estão relacionadas com a dor e reabsorção (SIGNORETTI, 2009) f) difusão pelos túbulos dentinários (GOMES et al., 2009).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A revisão da literatura atesta que apesar do hidróxido de cálcio ser a medicação de maior emprego em oposição às bactérias causadoras de patologias, quando utilizado isoladamente não se apresenta com grande eficácia na extinção desses microrganismos.

O presente trabalho evidencia que a associação de outras medicações incorporadas ao hidróxido de cálcio favorece resultados positivos com eliminação do *Enterococcus faecalis* no interior do canal radicular. Dentre elas, a clorexidina gel a 2% é a medicação que obteve maiores halos de inibição antibacteriana.

A associação do hidróxido de cálcio mais o gel de clorexidina 2% melhora significativamente os efeitos dos dois componentes.

REFERÊNCIAS

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, n. 2, p. 99-102, mar 1999. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10371903>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

BARBOSA-RIBEIRO M, DE-JESUS-SOARES, ZAIA AA, FERRAZ CC, ALMEIDA JF, GOMES BP. Antimicrobial Susceptibility and Characterization of Virulence Genes of *Enterococcus faecalis* Isolates from Teeth with Failure of the Endodontic Treatment. **JOE.** v. 42, n. 7, july 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27221594>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

BASRANI, B.; TJÄDERHANE, 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 Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 96, n. 5, p. 618-624, nov 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14600699>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

BAZVAND L, AMINOZARBAN MG, FARHAD A, NOORMOHAMMADI H, HASHEMINIA SM, MOBASHERIZADEH S. Antibacterial effect of triantibiotic mixture, chlorhexidine gel, and two natural materials Propolis and Aloe vera against *Enterococcus faecalis*: Na ex vivo study. **Dent Res J.** v. 11, n.4, p. 469-474, jul-aug 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25225560>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

BHANDARI, S.; ASHWINI, T S.; PATIL, C. R. An in Vitro Evaluation of Antimicrobial Efficacy of 2% Chlorhexidine Gel, Propolis and Calcium Hydroxide Against *Enterococcus faecalis* in Human Root Dentin. **J Clin Diagn Res.** v. 8, n. 11, nov 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4290330/>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

BURLEY, K. M.; SEDGLEY, C. M.; CRISPR- CAS. a Prokaryotic Adaptive Immune System, in Endodontic, Oral, and Multidrug-resistant Hospital-acquired *Enterococcus faecalis*. **JOE**, v. 38, n. 11, p.1511-1515, nov 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23063226>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

DAHLÉN, G.; SUSANNE, B.; ANNICA, A.; ANETTE, C.. Virulence factors and antibiotic susceptibility in enterococci isolated from oral mucosal and deep infections. **Journal of Oral Microbiology**, v. 4, p. 1-7, feb 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3285953/>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

DAMETTO, F. R.; FERRAZ, C. C. R.; GOMES, B. P. F. A.; ZAIA, A. A.; TEIXEIRA, F. B.; SOUZA FJ FILHO. 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, n. 6, p. 768-772, nov 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15897866>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

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, n. 2, p. 27-31, aug 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16876041>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

ESTRELA, C.; RIBEIRO, R. G.; ESTRELA, C. R. A.; PÉCORÁ, J. D.; SOUSA NETO, M. D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Braz. Dent J.** v. 14, n. 1, June 2003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-64402003000100011. Acesso em: 03 de maio de 2017.

EVANS, M. D.; 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, n. 5, p. 338-9, may 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12775006>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

FARIA, G.; CELES, M. R.; DE ROSSI, A.; SILVA, L. A.; SILVA, J. S.; ROSSI, M. A. Evaluation of Chlorhexidine Toxicity Injected in the Paw of mice and added to cultured L929 Fibroblasts. **JOE.** v.33, n. 6, jun 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17509413>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

FISHER, K.; PHILIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. **Microbiology.** v. 6, p. 1749-57, jun 2009. doi: 10.1099/mic.0.026385-0. Epub 2009 Apr 21. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19383684>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

FREIRE, L. G.; CARVALHO, C. N.; FERRARI, P. H. P.; SIQUEIRA, E. L.; GAVINI, G. Influence of dentin on pH of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone or in combination. **Dental Traumatology.** v. 26, n. 3, p. 276-80, jun 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20456473>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

GONDIM, J. O.; AVACA-CRUSCA, J. S.; VALENTINI, S. R.; ZANELLI C. F.; SPOLIDORIO, D. M.; GIRO, E. M. Effect of a calcium hydroxide/chlorhexidine paste as intracanal dressing in human primary teeth with necrotic pulp against *Porphyromonas gingivalis* and *Enterococcus faecalis*. **Int J Paediatr Dent.** v. 22, n. 2, p. 116-24, mar. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21883559>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

HAAPASALO, H. K.; SIREN, E. K.; WALTIMO, T. M.; ORSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. P. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. **Int Endod J.** v. 33, n. 2, p. 126-31, mar 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11307453>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

HAMIDI, M. R.; MAHMOUDI, E.; MOGHADAMNIA, A. A.; ZAHEPASHA, S. Effect of Calcium Hydroxide and Chlorhexidine Medicaments on the Apical Seal. **Iran Endod J.** v. 7, n. 1, p. 15-19, mar 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3467120/>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

JAVIDI, M.; ZAREI, M.; AFKHAMI, F. Antibacterial effect of calcium hydroxide on intraluminal and intratubular *Enterococcus Faecalis*. **Iran Endod J.** v. 6, n. 3, p. 103-106, aug, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23130062>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

JEANSONNE, M. J.; WHITE, R. R. A comparison of 2,0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. **J Endod.** v. 20, n. 6, p. 275-8, jun 1994. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7931023>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H. R.; FITZGERALD, R. J. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** v. 20, n. 3, p. 340-9, sept 1965. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0030422065901660>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

KAYAOGU, G.; ORSTAVIK, D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 15, p. 308-320, set 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15470268>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

KOMOROWSKI, R.; GRAD, H.; XIAO, Y. W.; FRIEDMAN, S. Antimicrobial Substantivity of Chlorhexidine-Treated Bovine Root Dentin. **J Endod.** v. 26, n. 6, p. 315-17, jun 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/articles/11199744/>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

LEONARDO, M. R.; TANOMARU FILHO, M.; SILVA, L. A.; NELSON FILHO, P.; BONIFACIO, K. C.; ITO, I. Y. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. **J Endod.** v. 25, n. 3, p. 167-71, mar 1999. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10321180>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

LIMA, K. C.; FAVA, L. R. G.; SIQUEIRA JUNIOR, J. F. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* Biofilms to Some Antimicrobial Medications. **J Endod.** v. 27, n. 10, p. 616-19, oct 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11592490>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

LOPES, H. P.; SIQUEIRA JR, J. F. Medicação Intracanal. **In:** Lopes HP, Siqueira Jr. JF, Endodontia Biologia e Técnica. Rio de Janeiro: Medsi, p. 581-618, 2004.

MAIA FILHO, E. M; MAIA, C. C. R.; BASTOS, A. C. S. C.; NOVAIS, T. M. G. Efeito antimicrobiano in vitro de diferentes medicações endodônticas e própolis sobre *Enterococcus faecalis*. **RGO**. v. 56, n.1, p. 21-25, jan./mar 2008. Disponível em: <file:///C:/Users/Bethania/Downloads/RGO-2009-1544.pdf>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

MICKEL, A. K.; NGUYEN, T. H.; CHOGLE, S. Antimicrobial activity of endodontic sealers on *Enterococcus faecalis*. **J Endod**. v. 29, n. 4, p. 257-8, apr 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12701774>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

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, n. 5, p.283-288, oct 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16922926>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

OGIER, J. C.; SERROR, P. Safety assessment of diary microorganisms: The *Enterococcus* genus. **International Journal of Food Microbiology**, v. 126, n. 3, p. 291-301, sep 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17889954>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

OMAR, N. B.; CASTRO, A.; ABRIOUEL, H.; YOUSIF , N. M. K.; FRANZ, ; HOLZAPFEL, W. H.; RUBÉN, P.; MARTÍNEZ-CANÁMERO, M.. Functional and safety aspects of *enterococci* isolated from diferente Spanish foods. **Syst Appl Microbiol**, v. 27, p. 118-130. 2004. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0723202004702441>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

ORSTAVIK D, HAAPASALO M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod Dent Traumatol**. v. 6.n. 4, p. 142-9, aug 1990. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2133305>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

PETERS, L. B.; WESSELINK, P. R.; VAN WINKELHOFF, A. J. Combinations of bacterial species in endodontic infections. **Int Endod J**. v. 35,n. 8, p. 698-702, aug 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12196223>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

PORTENIER, I.; TUOMOS, M. T W.; HAAPASALO, M. The root canal survivor and Star in Post-treatment disease. **Endodontic Topics**, v.6, p.135-139, nov 2003. Disponível em: <https://www.deepdyve.com/lp/wiley/enterococcus-faecalis-the-root-canal-survivor-and-star-in-post-Xxg8EPcndF>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

RICUCCI, D.; RUTBERG, M.; BURSLESON, J. A.; SPANGNERG, W.S. A prospective cohort study of endodontic treatments of 1,369 root canals: results after 5 years. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** v. 11, n.2, p. 824-842, aug 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22099859>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

SAWAYA, A. C.; PALMA, A. M.; CAETANO, F. M.; MARCUCCI, M. C.; CUNHA, I. B. S.; ARAUJO, C. E.; SHIMIZU, M.T. Comparative study of in vitro methods used to analyse the activity of propolis extracts with different compositions against species of *Candida*. **Lett Appl Microbiol.** v. 35, n. 3, p. 203-7. 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12180941>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

SCHAFER, E.; BOSSMANN, K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. **J Endod.** v. 31, n. 1, p. 53-6. Jan 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15614008>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

SCHIRRMEISTER JF, LIEBENOW AL, BRAUN G, WITTMER A, HELLWING E, AL-AHMAD A. Detection and Eradication of Microorganisms in Root- filled Teeth Associated With Periradicular Lesions: An In Vivo Study. **JOE.** v. 33, n. 5, may 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17437867>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

SIQUEIRA, J. F. JR.; 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, n. 6, p. 331-4, jun 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11199749>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

SIQUEIRA, J. F. JR.; UZEDA, M. Desinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. **J Endod.** v. 22, n. 12, p. 674-6, dec 1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9220753>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

SIQUEIRA, J. F. JR.; UZEDA, M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. **J Endod.** v. 23, n. 3, p. 167-9, mar 1997. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9594757>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

SUKAWAT, C.; SRISUWAN, T. A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with *Enterococcus faecalis*. **J Endod.** 2; v. 28, p. 102-4. feb 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11833679>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

VALERA, M. C.; SILVA, K. C.; MAEKAWA, L. E.; CARVALHO, C. A.; KOGA-ITO, C. Y.; CAMARGO, C. H, LIMA, R. S. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite associated with

intracanal medication for *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* inoculated in root canals. **J Appl Oral Sci.** v. 17, n. 6, p. 555-9, nov-dec 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20027425>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

WHITE, R. R.; HAYS, G. L.; JANER, L. R. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. **J Endod.** v. 2, n. 4, p. 229-31, apr 1997. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9594771>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

WALTIMO, T. M.; SIRÉN, E. K.; ORSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. P. Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. **Int Endod J.** v. 32, n. 2, p. 94-8, mar 1999. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10371902>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

ZEHNDER, M.; WALTIMO, T.; SENER, B.; SÖDERLING, E. Dentin enhances the effectiveness of bioactive glass S53P4 against a strain of *Enterococcus faecalis*. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 101, n. 4, p.530-535, apr 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16545719>. Acesso em: 03 de maio de 2017.