



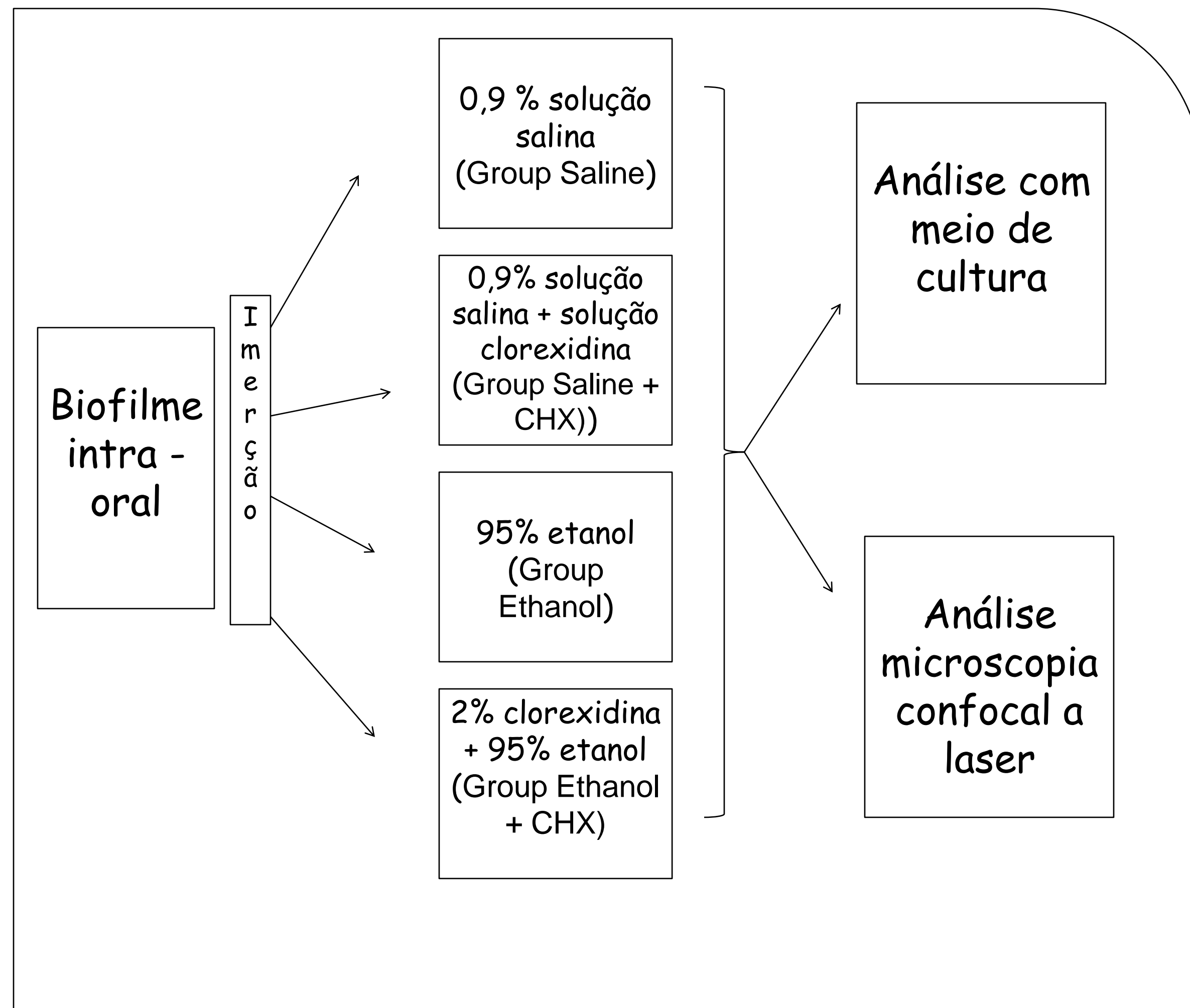
INTRODUÇÃO

Para desinfecção e preparo dos canais para a obturação é executado o preparo químico mecânico, durante o utiliza-se como substância irrigante o hipoclorito de sódio. Em alguns casos, como em retratamentos a utilização do irrigante final clorexidina é indicada devido as suas propriedades antibacterianas. Entretanto, quando em contato essas duas substâncias podem formar subprodutos que podem ser precipitados sólidos, sob a forma de uma massa castanho-avermelhado que são difíceis de remover e podem obstruir os túbulos dentinários, eles podem também ser tóxicos para os tecidos periapicais. Por isso, utiliza-se um irrigante intermediário entre o hipoclorito de sódio e a clorexidina como o soro e o etanol para evitar a formação de precipitados. No entanto, muitos fatores a respeito do uso intra-canal de etanol a 95% são desconhecidos, como a sua influência sobre as propriedades antibacterianas de CHX.

OBJETIVOS

Investigar os efeitos do etanol 95% sobre as propriedades antimicrobianas da clorexidina por microscopia de varredura confocal a laser de biofilmes e um método baseada em culturas para detectar microorganismos planctônicos.

MATERIAL E MÉTODOS



Análise meio de cultura

Foram feitas coletas antes e após a irrigação e aspiração. O canal era preenchido com soro e com cones papel esterilizados era realizada coleta microbiana e então inseridas em tubos de Eppendorf e agitados durante 1 minuto. As amostras foram diluídas em série em meio BHI estéril a 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000. Vinte e cinco microlitros de cada solução foi semeada em meio BHI e incubadas durante 24 horas para permitir a contagem de colônias (CFU) microbianas. A pureza da cultura foi confirmada pela morfologia das colônias, a coloração de Gram e a catalase. Um exemplo de contagem CFU é como se segue: em 1/100 diluição de BHI, o valor correspondente é de 1,0 mL (100 vezes menor do que o valor inicial), e a alíquota é plaqueada é 25 ul (40 vezes menor do que 1,0 mL); o factor múltiplo CFU, por conseguinte, é 4000. Um avaliador cego para os grupos experimentais realizada a contagem microbiana. Coleta e contagem microbiana foram realizadas em três momentos: antes da descarga final (S1), imediatamente após a irrigação final (S2) e 24 horas após a irrigação final (S3).

Análise microscopia confocal a laser

Após imersão nas soluções foram analisadas três áreas na microscopia da seguinte forma: as amostras foram limpos pela primeira vez com 2 ml de solução salina e com 0,25 mL de corante (Live / Dead BacLight, Invitrogen, Eugene, OR, US). Um microscópio de varredura a laser confocal foi usado para visualizar as amostras. Em primeiro lugar, o biofilme foi avaliada em 10 x ampliação para encontrar regiões de mais espesso do biofilme. A partir dessas áreas, um avaliador escolheu aleatoriamente três locais a serem avaliadas em 60 x ampliação.

RESULTADOS

		Saline (n=7)	Saline + CHX (n=7)	Ethanol (n=7)	Ethanol + CHX (n=7)
Mediana, P(25), P(75)	Biovolume total ($\mu\text{m}^3 \times 10^6$)	16 (8.4/17.2)	21.2 (16.9/28.2)	21.4 (15.4/29.8)	15.9 (15.1/21.6)
	Biovolume de células vivas ($\mu\text{m}^3 \times 10^6$)	15 (7.3/16.7)	13.7 (12.5/15.8)	13.8 (8.6/20.3)	13.8 (12.7/15.7)
	Células vivas ^a (%)	93.4 (92.7/96.5)	79.6 (65.9/81.0)*	64.6 (53.3/75.7)*	76.3 (68.9/83.5)*

Tab 1 . Mediana e percentis P (25) e P (75) de biovolume celular e porcentagem de células vivas em amostras de dentina bovina, em cada grupo.
Nota de rodapé: CHX, clorexidina; um (biovolume de células vivas / biovolume total) x 100; * Diferença estatística significativa em relação ao grupo salina, teste de Kruskal Wallis e teste de Dunn ($\alpha = 5\%$).

Substâncias Irrigadoras	C1	C2	C3
Group Saline	160 ^B	16.4 ^{Ab}	21.2 ^{ABb}
Group Saline + CHX	306 ^B	0.0125 ^{Aa}	0.0104 ^{Aa}
Group Ethanol	40 ^B	0.0009 ^{Aa}	22 ^{Bb}
Group Ethanol + CHX	128 ^B	0.8 ^{Aa}	0.01 ^{Aa}

Tab 3. Comparação de UFC entre os grupos em cada período experimental antes de irrigação final (S1), imediatamente após a irrigação final (S2), e após 24 horas (S3).
Nota de rodapé: CHX, clorexidina; * Diferentes letras maiúsculas sobrescritas em cada linha representam a significância estatística ($P < 0,05$), teste Friedman's ($\alpha = 5\%$); * Diferentes letras minúsculas sobrescritas em cada coluna representam diferenças ($P < 0,05$) após os testes post-hoc de Dunn ($\alpha = 5\%$) de Kruskal-Wallis e.

Substâncias irrigadoras	Períodos Experimentais		
	C1	C2	C3
Group Saline	100% ^b	9.5% ^{Ba}	33.9% ^{Bb}
Group Saline + CHX	100% ^b	0% ^{Aa}	0% ^{Aa}
Group Ethanol	100% ^b	0% ^{Aa}	34.3% ^{Bb}
Group Ethanol + CHX	100% ^b	0.1% ^{Aa}	0% ^{Aa}

Tab 2 . Porcentagem total de remanescentes de células vivas após a coleta microbiana dos canais radiculares em cada grupo de acordo com o período experimental: antes de irrigação final (S1), imediatamente após a irrigação final (S2), e após 24 horas (S3).
Nota de rodapé: CHX, clorexidina; * Diferentes letras maiúsculas sobrescritas em cada coluna representam significância estatística ($P < 0,05$), teste de Kruskal Wallis e teste de Dunn ($\alpha = 5\%$); * Diferentes letras minúsculas sobrescritas em cada linha representam significância estatística ($P < 0,05$), teste Friedman's ($\alpha = 5\%$).

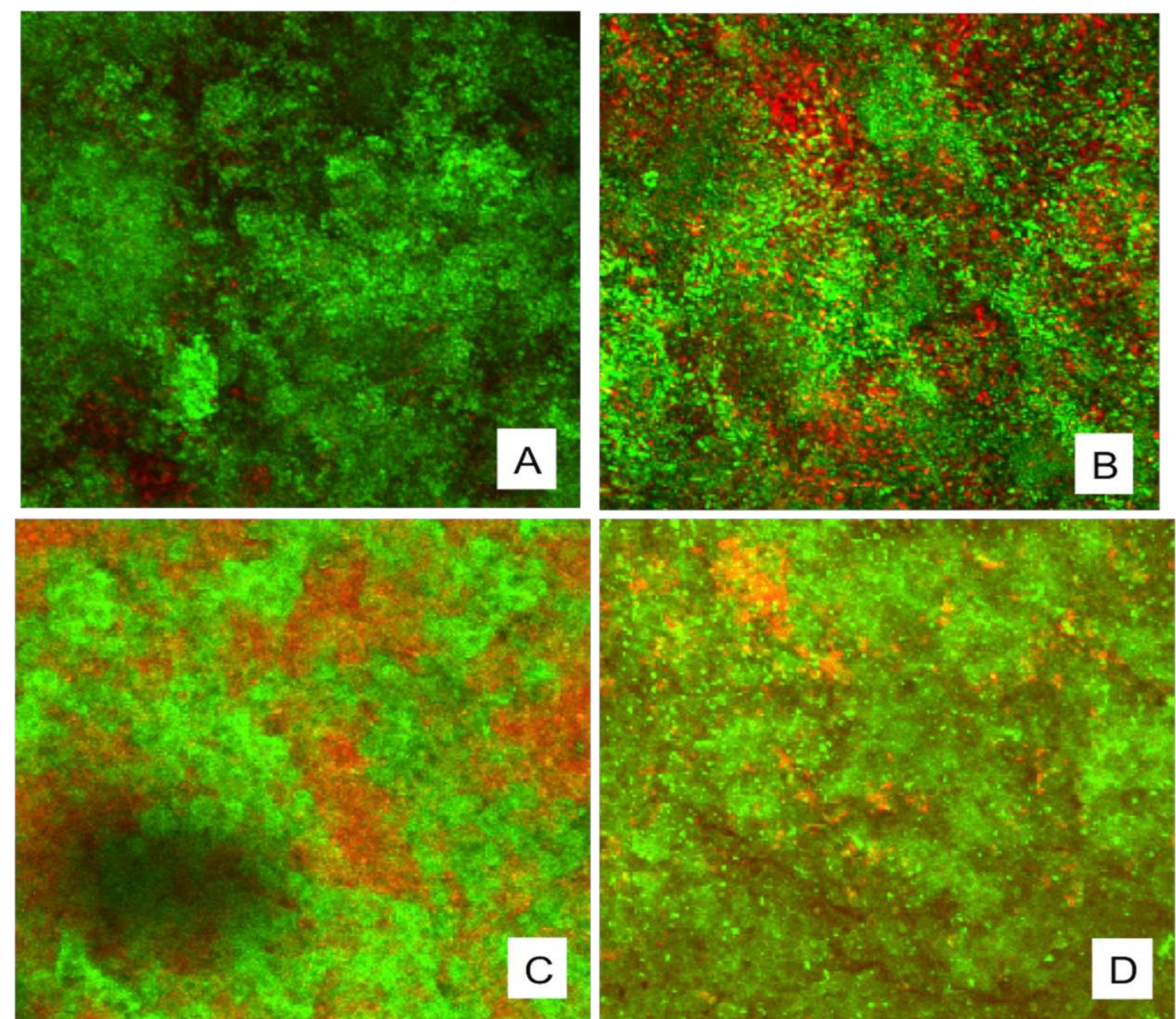


Fig. 1 . Microscopia de varredura confocal a laser mostrando o biovolume de células vivas ($\mu\text{m}^3 \times 10^6$) em diferentes grupos: (A) saline- 0.9% saline solution (5 min); (B) saline + CHX -0.9% saline solution (5 min) + 2% CHX solution (5 min); (C) ethanol - 95% ethanol (5 min); and (D) ethanol + CHX - 95% ethanol (5 min) + 2% CHX solution (5 min).

CONCLUSÃO

Etanol 95% não afetou as propriedades antibacterianas da clorexidina 2%, o que sugere que o álcool etílico pode ser utilizado como irrigante intermediário entre o hipoclorito e a clorexidina após a finalização dos procedimentos de instrumentação do canal radicular.