




Laís Stabile PRONI**

 <https://orcid.org/0000-0003-2621-9281>


Maria Letícia Oliveira e FREITAS***

 <https://orcid.org/0000-0003-2529-5231>


Julia de Oliveira NEVES****

 <https://orcid.org/0000-0001-7843-1116>


Franciele de Oliveira DIAS*****

 <https://orcid.org/0000-0001-5418-2530>

Carolina Simonetti LODI*****

 <https://orcid.org/0000-0002-3926-8392>

Gabriely Cristinni REZENDE*****

 <https://orcid.org/0000-0003-2203-4538>

Recebido em: 29 de julho de 2022.

Aprovado em: 10 de abril de 2023.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PASTA DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO ASSOCIADA AO ÓLEO DE MAMONA E ÓLEO DE COCO SOBRE BIOFILME DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS**

RESUMO

O principal objetivo do tratamento endodôntico é alcançar um ambiente livre de bactérias por meio das soluções irrigantes, preparo biomecânico e medicações intracanaís. O hidróxido de cálcio é amplamente utilizado como medicação intracanal por apresentar propriedades antimicrobianas e biológicas adequadas ao tratamento endodôntico, normalmente associado a um veículo que permita sua inserção nos canais radiculares. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio associada a diferentes veículos sobre biofilme de *Enterococcus faecalis*. Foram confeccionados 90 espécimes de dentina, que permaneceram em placas contendo meio de cultura inoculado com *Enterococcus faecalis* para permitir a formação de biofilme. Decorridos 21 dias, os espécimes foram lavados em solução salina e transferidos para uma nova placa onde as medicações com os diferentes veículos a serem testados foram colocados sobre o biofilme. As placas de cultura foram deixadas em estufa a 37°C por 7, 14 e 21 dias. Espécimes sem aplicação de medicação foram utilizados como controle para cada tempo experimental. Após cada tempo experimental de contato com os veículos, os espécimes foram lavados em solução salina, agitados em vortex, diluídos e plaqueadas em triplicata em meio de cultura específicos. As unidades formadoras de colônias foram contadas e analisadas estatisticamente ($p < 0,05$) para determinação do potencial antimicrobiano. Os resultados mostraram que não houve diferença estática nos diferentes veículos e períodos avaliados. Diante dos resultados encontrados, podemos concluir que os óleos naturais não influenciaram na atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio e o aumento do período de contato com a medicação não eliminou mais microrganismos.

Palavras-chave: Endodontia. Hidróxido de cálcio. *Enterococcus faecalis*.

THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CALCIUM HYDROXIDE PASTE ASSOCIATED WITH CASTOR OIL AND COCONUT OIL ON *ENTEROCOCCUS FAECALIS* BIOFILM

ABSTRACT

The main goal of endodontic treatment is to achieve a bacteria-free environment by irrigating solutions, biomechanical preparation, and intracanal medications. Calcium hydroxide is widely used as an intracanal medication as it presents antimicrobial and biological properties suitable for endodontic treatment, usually associated with a vehicle that allows its insertion into the root canals. Accordingly, the aim of this paper was to evaluate the antimicrobial activity of calcium hydroxide associated with different vehicles on *Enterococcus faecalis* biofilm. Ninety dentin specimens were made and placed on plates containing culture media inoculated with *Enterococcus faecalis* to allow biofilm formation. After 21 days, the specimens were washed in saline solution and transferred to a new plate where the medications with the different vehicles to be tested were placed on the biofilm. The culture plates were left in an oven at 37°C for 7, 14, and 21 days. Specimens without medication application were used as control for each experimental time. After each trial contact time with the vehicles, the specimens were washed in saline, vortexed, diluted, and plated in triplicate on specific culture media. The colony forming units were counted and statistically analyzed ($p < 0.05$) to determine the antimicrobial potential. The results showed that there was no static difference in the different vehicles and evaluation periods. Given the results obtained, we may conclude that the natural oils did not influence the antimicrobial activity of calcium hydroxide, and increasing the contact period with the medication did not eliminate more microorganisms.

Keywords: Endodontics. Calcium hydroxide. *Enterococcus faecalis*.

** Graduada em Odontologia do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: laisproni@hotmail.com

*** Graduada em Odontologia do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: marialeticia_pba@hotmail.com

**** Graduada em Odontologia do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: julianeves99@outlook.com.br

***** Graduada em Odontologia do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: frandiasdeoliveira01@gmail.com

***** Doutora, Docente do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: carol_lodi@yahoo.com.br

***** Doutora, Docente do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: gaby.cristinni@hotmail.com

* Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Pibic/Unifunec



1 INTRODUÇÃO

A presença de bactérias e seus subprodutos na polpa dentária provoca lesão no tecido pulpar, levando a infecções endodônticas (GANGWAR *et al*, 2011). Assim, o principal objetivo do tratamento endodôntico é alcançar um ambiente livre de bactérias através da ação das soluções irrigantes e limpeza biomecânica, a fim de obter sucesso clínico (GANGWAR *et al.*, 2011). No entanto, alguns microrganismos podem sobreviver aos procedimentos endodônticos e manter uma infecção persistente (SIQUEIRA JUNIOR; RÔÇAS, 2008).

Os medicamentos intracanaís auxiliam na desinfecção durante o tratamento endodôntico, devido a sua ação antibacteriana contra microrganismos comuns na flora do canal radicular (GANGWAR *et al.*, 2011). Dentre as medicações disponíveis no mercado, o hidróxido de cálcio é amplamente utilizado devido a suas propriedades antimicrobianas e biológicas (DESAI & CHADLER, 2009). As principais ações do hidróxido de cálcio advêm da dissociação iônica dos íons Ca^{2+} e OH^- , no tecido periapical gerando a indução da deposição de tecido duro e nas bactérias provocando o efeito antibacteriano (ESTRELA *et al.*, 1994).

Porém, o hidróxido de cálcio é um pó branco, inodoro com alto pH e baixa solubilidade em água, geralmente associado com propilenoglicol. Segundo SIMON *et al.* (1995), quando associado com o propilenoglicol, o hidróxido de cálcio apresenta ação antibacteriana contra microrganismos encontrados nos canais radiculares infectados. Segundo Barbosa *et al.* (1997), foi avaliada a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio mediante estudo laboratorial e clínico e os resultados laboratoriais mostraram que o hidróxido de cálcio foi totalmente inefetivo sobre os microrganismos analisados, que são encontrados com frequência em canais radiculares infectados. *Enterococcus faecalis* é *coccus* gram-positivo, capaz de sobreviver dentro de túbulos dentinários e em pH alcalino, muito comum nas infecções endodônticas persistentes (MARQUES DA SILVA *et al.*, 2010).

Em 1984, o Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo (IQSC-USP, Brasil) desenvolveu um derivado de mamona com atividade bacteriostática, a *Ricinus comunis*, um vegetal típico de climas tropicais, que produz poliis e pré-polímeros a partir de ácidos graxos. Em estudo endodôntico, o material apresentou atividade antibacteriana comparável à do hipoclorito de sódio a 0,5%, com diminuição de microrganismos facultativos, quando utilizado como solução irrigadora durante o preparo químico-mecânico de dentes com polpa necrótica e lesão periapical (FERREIRA, 2002).

Por essa razão, a associação de outras substâncias que apresentem ação microbiana podem ajudar a eliminar microrganismos resistentes e ainda estimularem a formação de tecidos mineralizados.

O óleo de coco virgem é obtido a partir da extração de um grão amadurecido do coco (*Cocos nucifera L.*) por meio de processamento mecânico ou térmico muito utilizado na indústria cosmética. Segundo A. Deen (2020), o óleo de coco possui efeitos positivos para a saúde, o qual apresenta propriedades antimicrobianas, antioxidante e anti-inflamatória. O óleo de coco é eficaz contra vários microrganismos orais, e há estudos que mostram que organismos gram positivos e gram negativos, como *Escherichia vulneris*, *Enterococcer spp*, *Helicobater pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Candia albicans* sofrem ação antimicrobiana com o uso do óleo de coco (PEEDIKAYIL, 2016).

Logo, a associação do hidróxido de cálcio com outras substâncias que apresentem atividade microbiana vem sendo proposta com o intuito de melhorar suas propriedades.

Sendo assim, este trabalho tem por objetivo avaliar, comparativamente, a ação antimicrobiana da pasta de hidróxido de cálcio associada ao óleo de mamona, óleo de coco, soro fisiológico e propileno sobre biofilme de *Enterococcus faecalis*.

2 HIPÓTESE

A hipótese nula desse trabalho foi que não haveria diferença estatística entre a efetividade do hidróxido de cálcio associado aos diferentes materiais e ainda que não haveria aumento na efetividade antimicrobiana nos períodos de maior contato com o biofilme.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Grupos experimentais

Os grupos experimentais foram divididos de acordo com a Tabela 1, foram usadas 4 amostras por grupo e não houve perda.

Tabela 1 - Grupos experimentais

Materiais Experimentais	Tempos Experimentais (dias)		
Hidróxido de cálcio com soro fisiológico	7	14	21

Hidróxido de cálcio com propileno	7	14	21
Hidróxido de cálcio com óleo de mamona	7	14	21
Hidróxido de cálcio com óleo de coco	7	14	21
Grupo controle	7	14	21

Fonte: Dos próprios autores.

Os tempos experimentais indicam os períodos em dias que as amostras ficaram expostas aos materiais experimentais. Amostras adicionais foram utilizadas como controle positivo (contaminadas e sem pasta, mantidas em água deionizada estéril) e controle negativo (não contaminadas e mantidas em água destilada estéril).

3.2 Preparo dos extratos

Para o preparo, a pasta de hidróxido de cálcio foi aberta e homogeneizada, em seguida, os veículos óleo de mamona, óleo de coco, propileno e soro fisiológico foram acrescentados na proporção de 1:1, de acordo com o grupo a ser avaliado.

Após a manipulação das pastas, cada pasta foi pesada em tubos falcon identificados e acrescentados com água destilada estéril, na proporção de 1g da pasta para 1mL de água deionizada estéril. Os tubos foram então deixados a uma temperatura de 37°C por 24h.

3.3 Obtenção e preparo dos blocos de dentina

Para a realização deste estudo, foram obtidos dentes incisivos de bovinos com idade aproximada de três anos. Estes dentes foram mantidos em timol 0,2% pH 7,0 durante 30 dias antes de qualquer procedimento experimental. Blocos de dente bovino (4 x4 x 1,5mm) serão obtidos a partir da porção mais plana da raiz do dente e planificados com o auxílio de uma lixa. Os blocos resultantes (substratos para crescimento do biofilme) foram colocados em um tubo de ensaio contendo água destilada e esterilizado em autoclave a 121°C por 20 min (FARIA-JÚNIOR *et al.*, 2013) antes de sua utilização no experimento. Esses blocos estéreis foram utilizados para a formação do biofilme de *Enterococcus faecalis*.

3.4 Reativação das cepas bacterianas

As cepas de *Enterococcus faecalis* de referência (ATCC 51299) congeladas foram, primeiramente, plaqueadas em meio de cultura BHI ágar (Brain Heart Infusion) (HIMEDIA, Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Maharashtra, India) e incubadas em estufa a 37°C, por 48 horas. Após esse período, cinco colônias de *E. faecalis* foi inoculada em 5 mL de meio de cultura BHI caldo (HIMEDIA, Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Maharashtra, India) e mantida em estufa de CO₂ (5% CO₂) a 37°C por 12 horas para permitir o crescimento bacteriano (KIMYAI *et al.*, 2011).

Após o crescimento *overnight*, a cultura de *E. faecalis* foi ajustada na densidade óptica de 0,06 em espectrofotômetro (Espectrofotômetro UV/Vis – 1800, Shimadzu Corporation, Nakagyo-Ku, Kyoto, Japão) no comprimento de onda de 550nm, para obtenção de concentrações de bactérias de, aproximadamente, 3,2 x 10⁷ CFU/mL (FARIA-JÚNIOR *et al.*, 2013).

3.5 Formação do biofilme

Para a formação do biofilme, os blocos de dentina foram colocados de forma asséptica em placas de cultura de tecido com 24 poços (TPP Techno Plastic Products AG, Suíça), onde foram adicionados 200µL da suspensão com a concentração conhecida de *E. faecalis* (aproximadamente 3,2 x 10⁷ CFU/mL) preparado previamente e acrescentando 1,8 mL de meio de cultura fresco BHI caldo (HIMEDIA, Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Maharashtra, India).

As placas de cultura foram incubadas em estufas a 37°C por 14 dias. O meio de cultura caldo BHI e cada espécime foram completamente trocados a cada 48 horas, sem adição de novos microrganismos (FARIA-JÚNIOR *et al.*, 2013).

3.6 Análise microbiológica

Decorridos 14 dias de formação de biofilme, os espécimes foram lavados em 2mL de solução salina 0,9% e, em seguida, colocados em novas placas de cultura de 24 poços contendo 1mL do extrato referente a cada pasta, onde foram deixados de acordo com cada período experimental.

Após cada tempo experimental de contato com o extrato (2, 7 e 14 dias), os espécimes foram novamente lavados em 2ml de solução salina 0,9% e, em seguida, colocados em tubos

Falcon contendo 1mL de solução salina, agitados em vortex por 1 minuto para que os microrganismos a eles aderidos sejam transferidos para a solução salina.

As suspensões foram sequencialmente diluídas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) e inoculadas em triplicata no meio de cultura m-Enterococcus ágar (HIMEDIA, Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Maharashtra, India) para determinar a quantidade Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *E. faecalis*.

Para a determinação das UFCs de *E. faecalis*, 3 gotas de 10 μ L das diluições pré-estabelecidas foram inoculadas pela técnica da semeadura por gotas, na superfície de placas de petri contendo o m-*Enterococcus ágar*.

Com as gotas secas, as placas foram incubadas em estufa de CO₂ (5% CO₂) a 37°C por 48 h para a contagem das bactérias viáveis.

3.7 Análise estatística

A análise estatística foi realizada usando Sigma Plot 12.0 (Systat Software Inc., San Jose, USA). A média das Unidades Formadoras de Colônias (UFC no biofilme) foram calculadas para cada grupo. Os dados foram analisados pelo modelo ANOVA de fator único e Shapiro-Wilk, uma vez que não foram distribuídos normalmente e as variâncias não foram iguais. O teste unilateral de Kruskal-Wallis também foi usado. O nível de significância adotado foi de 5%.

4 RESULTADOS

A Tabela 2. evidencia a média UFC/mL dos diferentes grupos. A comparação entre os grupos revelou que o hidróxido de cálcio associado ao propilenoglicol apresentou a maior atividade antimicrobiana, eliminando o biofilme após 7 dias de contato direto, seguido da associação com soro fisiológico e óleo de coco quando comparado com o grupo controle ($p < 0,001$). A comparação entre os períodos avaliados revelou que as medicações avaliadas não aumentaram a sua atividade antimicrobiana ao ficar mais tempo em contato com a medicação.

Tabela 2 - Média de UFC/ML dos Diferentes Grupos e Tempos Avaliados

GRUPOS	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS
CONTROLE	3,3 X 10 ⁵ A,a	1,0 X 10 ⁵ A,a	3,4 X 10 ⁵ A,a
HC+ SORO	3,1 X 10 ¹ B,a	1,5 X 10 ¹ B,a	1,9 X 10 ¹ B,a
HC+ PROPILENO	0 C,a	0 C,a	0 C,a
HC+ ÓLEO DE COCO	4,7 X 10 ⁵ A,a	3,3 X 10 ⁵ A,b	1,2 X 10 ⁵ A,b
HC+ ÓLEO DE MAMONA	1,3 X 10 ⁵ A,a	2,5 X 10 ⁵ A,a	4,0 X 10 ⁵ A,a

* Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos (p<0,001). Sendo letras maiúsculas para diferenças entre os grupos e minúsculas, entre os tempos.

5 DISCUSSÃO

Neste estudo, a eficácia do hidróxido de cálcio foi comparada associando os diferentes veículos, como o soro fisiológico, propileno, óleo de coco e óleo de mamona contra biofilme de *Enterococcus faecalis*.

O teste de contato direto no biofilme de *Enterococcus faecalis* foi a metodologia de escolha, pois evita resultados falsos/positivos (FARIA-JÚNIOR *et al.*, 2013), e o número de UFC do grupo controle em todos períodos avaliados neste estudo mostra a efetividade da formação do biofilme sobre blocos de dentina.

O hidróxido de cálcio é amplamente utilizado como medicação intracanal por apresentar atividade antimicrobiana, auxiliando na redução de microrganismos que sobreviveram ao tratamento endodôntico (DESAI; CHADLER, 2009).

Os resultados mostraram que o propilenoglicol associado ao hidróxido de cálcio possui maior efetividade antimicrobiana, quando comparado com veículos naturais. Pois, por ser um material higroscópico, permite a absorção de água garantindo uma boa liberação de hidróxido de cálcio (BAIRY *et al.*, 1993; SIMON *et al.*, 1995). Essa ação antibacteriana do propilenoglicol contra microrganismos encontrados nos canais radiculares infectados está de acordo com os resultados encontrados por SIMON *et al.* 1995

Já os veículos oleosos são substâncias não solúveis em água que promovem a menor solubilidade e difusão da pasta nos tecidos, podendo permanecer no canal radicular por mais tempo do que as pastas contendo veículos aquosos ou viscosos (LOPES *et al.* 1987; LAJE MARQUES *et al.*, 1994; LOPES *et al.*, 1996). No presente estudo, as associações foram avaliadas em períodos curtos (7 dias), médio (14 dias) e longo (21 dias), simulando os períodos mais comuns de permanência das medicações associadas a veículos aquosos e viscosos. Os

resultados não mostraram efetividade da pasta quando associada ao óleo de coco e de mamona após 14 e 21 dias de contato com o biofilme.

Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores que demonstraram que o óleo de coco, em concentrações maiores, apresenta menor efetividade contra *E. faecalis* (MEDEIROS DE AZEVEDO *et al.*, 2020), o que pode ser justificado pelos fatores físico-químicos, como solubilidade e difusão da pasta de hidróxido de cálcio quando associada ao óleo (ALI; BLUNDEM, *et al.*, 2003). Salles *et al.* (2015) relataram efetividade do óleo de mamona contra patógenos orais sobre biofilme de prótese total, exceto *E. faecalis*, concordando com os resultados encontrados no presente estudo. Entretanto, Valera *et al.* (2013), ao utilizarem o óleo de mamona como solução auxiliar no preparo biomecânico, demonstraram efetividade contra biofilme de *E. faecalis*. A diferença entre os resultados pode ser justificada pela concentração do extrato avaliado nos diferentes estudos, uma vez que Valera *et al.* (2013) utilizaram a substância mais concentrada (extrato) e o presente estudo e Salles *et al.* (2015), a substância diluída ou associada, o que pode interferir na propriedade antimicrobiana do veículo.

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados, podemos concluir que a associação da pasta de hidróxido de cálcio com os óleos naturais não influenciou na efetividade antimicrobiana contra o biofilme de *E. faecalis*. Enquanto o propilenoglicol, quando associado com o hidróxido de cálcio, proporcionou ação antimicrobiana contra a cepa avaliada.

REFERÊNCIAS

DEEN, A. *et al.* Chemical composition and health benefits of coconut oil: an overview.

Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 101, n. 6, p. 2182-2193, 2020.

Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10870>.

ALI, B. H.; BLUNDEN, G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*.

Phytotherapy Research, v. 17, n. 4, p. 299-305, 2003. Disponível em:

<https://doi.org/10.1002/ptr.1309>.

BAIRY, I.; BHAT, K.S.; SHIVANANDA, P. G. An in vitro evaluation of antibacterial actions of calcium hydroxide against causative microorganisms of osteomyelitis. **Indian Journal of Medical Microbiology**, 1993.

BARBOSA, C. A. *et al.* Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. **Journal of Endodontics**, v. 23, n. 5, p. 297-300, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(97\)80409-8](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(97)80409-8).

DESAI, S.; CHANDLER, N. Calcium hydroxide-based root canal sealers: a review. **Journal of endodontics**, v. 35, n. 4, p. 475–480, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.11.026>.

ESTRELA, C. **Análise química de pastas de hidróxido de cálcio, frente à liberação de íons cálcio, de íons hidroxila e formação de carbonato de cálcio, na presença de tecido conjuntivo de cão (Thesis)**. São Paulo; s.n; 1994. Tese. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-143373>.

PEEDIKAYIL, F. C. *et al.* Comparison of antibacterial efficacy of coconut oil and chlorhexidine on Streptococcus mutans: An in vivo study. **Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry**, v. 6, n. 5, p. 447–452, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/2231-0762.192934>

FARIA-JÚNIOR, N. B. *et.al.* Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. **International Endodontic Journal**, v. 46, n. 8, p. 755–762, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12055>.

FAVA, L.R.G. Pastas de hidróxido de cálcio: considerações sobre seu emprego clínico em Endodontia. **Revista Paulista de Odontologia**, v. 13, n. 5, p. 36-43, 1991. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-858763>.

FAVA, L. R. G.; SAUNDERS, W. P. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. **International Endodontic Journal**, v. 32, n. 4, p. 257–282. 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.1999.00232.x>.

FERREIRA, C. M. *et.al.* Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. **Brazilian Dental Journal**, v. 13, n. 2, p. 118-122, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-64402002000200008>.

GANGWAR, A. Antimicrobial effectiveness of different preparations of calcium hydroxide. **Indian Journal of Dental Research**, v. 22, n. 1, p. 66–70, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0970-9290.79986>.

LEONARDO, M.R.; LEAL, J. M.; SIMÕES FILHO, A. P. **Endodontia Tratamento Dos Canais Radiculares**. São Paulo: Panamericana 1982.

MARQUES DA SILVA, B. *et al.* A ação do hidróxido de cálcio frente ao enterococcus faecalis nos casos de periodontite apical secundária. **Odonto**, v. 18, n. 36, p. 95-105, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.15603/2176-1000/odonto.v18n36p95-105>.

LAGE MARQUES, J. L. S. *et al.* Avaliação da velocidade de dissociação iônica do hidróxido de cálcio associado a diferentes veículos. **Revista de Odontologia da USP**, v. 8, n. 2, p. 81-7, 1994. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-143465>.

MEDEIROS DE AZEVEDO, W. *et al.* Physicochemical characterization, fatty acid profile, antioxidant activity and antibacterial potential of cacaó oil, coconut oil and cacaó butter. **PLoS One**, v. 15, n. 4, e0232224, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232224>

SALLES, M. M. *et al.* Antimicrobial action of sodium hypochlorite and castor oil solutions for denture cleaning – in vitro evaluation. **Brazilian Oral Research**, v. 29, n. 1, p. 1-6, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0104>

SIMON, S. T.; BHAT, K. S.; FRANCIS, R. Effect of four vehicles on the pH of calcium hydroxide and the release of calcium ion. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 80, n. 4, p. 459-464, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1079-2104\(05\)80371-3](https://doi.org/10.1016/S1079-2104(05)80371-3).

SIQUEIRA JUNIOR, J. F.; RÔÇAS, I. N. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. **Journal Of Endodontics**, v. 34, n. 11, p. 1291-1301, e3, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.07.028>.

VALERA, M. C. *et al.* In vitro antimicrobial activity of auxiliary chemical substances and natural extracts on *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* in root canals. **Journal of Applied Oral Science**, v. 21, n. 2, p. 118–123, mar. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-7757201302135>.