

AVALIAÇÃO “IN VITRO” DA INIBIÇÃO DE *E. FAECALIS* PELA CLOREXIDINA 2% PRÓPOLIS 4% E HIPOCLORITO DE SÓDIO 1% NA TERAPIA DOS CANAIS RADICULARES¹

“In vitro” evaluation of *E. faecalis* inhibition by chlorhexidine 2%, propolis 4% and sodium hypochlorite 1% on the root canals therapy

Laudimar Alves de Oliveira *

RESUMO

As propriedades físico-químicas das substâncias auxiliares são determinantes no êxito da terapêutica endodôntica. O presente trabalho avaliou a inibição microbiana do digluconato de clorexidina 2%, do hipoclorito de sódio 1% e da própolis 4%. Foram utilizadas 80 raízes de molares humanos recém-extraídos, contaminados com *E. faecalis*. As raízes foram instrumentadas pelas técnicas manual e mecanizada e submetidas à irrigação copiosa com as substâncias teste. Os resultados indicaram que a inibição microbiana das substâncias foi, de maneira decrescente, a clorexidina 2%, o hipoclorito de sódio 1% e a própolis 4%, sendo que os dois primeiros mostraram diferença estatisticamente significativa - Mann Whitney test ($p < 0,05$). A instrumentação manual ofereceu maior eficiência na diminuição microbiana. Entretanto, essa diferença não se mostrou significativa - Mann Whitney test ($p < 0,05$). Por fim, com base no presente estudo não se pode afirmar que houve diferença no controle microbiano entre as técnicas de instrumentação manual e mecanizada.

UNITERMOS

Irrigação, Clorexidina 2%, Hipoclorito de sódio 1%, Própolis 4%.

INTRODUÇÃO

O preparo biomecânico do sistema de canais radiculares visa à remoção do conteúdo da cavidade pulpar e sua adequação ao preenchimento por materiais obturadores. Esse procedimento ocupa posição de destaque na terapia endodôntica, pois é responsável pela limpeza e modelagem dos canais, que deverão produzir um canal cirúrgico, com forma cônica contínua (Takahashi¹⁶ 1998).

A qualidade da desinfecção e da limpeza dos canais depende da composição, volume e concentração das substâncias auxiliares e da característica e ação mecânica dos instrumentos ali inseridos (Oliveira & Toledo¹² 2003).

No entanto, em canais curvos e/ou estreitos essa tarefa torna-se mais complexa, pois, os instrumentos tendem a retificar a arquitetura original.

Portanto, a presente pesquisa busca avaliar, “in vitro”, a capacidade de inibição de cepas de *E. faecalis* por meio da terapia químico-mecânica do sistema de canais da solução aquosa do digluconato de clorexidina a 2%, do hipoclorito de sódio 1%, da solução aquosa de própolis 4%, em dentes submetidos à instrumentação manual ou mecanizada.

REVISÃO DE LITERATURA

Para superar os obstáculos encontrados pela instrumentação manual e diminuir o tempo de trabalho, facilitando sua configuração final, aparelhos sônicos, ultra-sônicos e rotatórios têm sido constantemente apresentados. Desde o *Giromatic*, nos anos 60, esses dispositivos

têm como meta reproduzir os movimentos básicos da instrumentação manual. As ligas de níquel-titânio, o motor à baixa velocidade e o torque modular, têm sido bastante encorajados pelos resultados encontrados, principalmente em canais de anatomia atípica. Como resultado produzem pouca ou nenhuma deformação da conformação original do canal (Glosson *et al*¹ 1995; Knowles *et al*⁶ 1996).

Takahashi¹⁶ (1998), ressaltou que a importância das infecções endodônticas não se limita ao sítio primitivo. Essas lesões ao causar bacteremia, migração plasmática de bactérias, promovem disseminação sistêmica. Destacou, ainda, que todo portador de infecções bucais, quando indicado à quimioterapia ou transplante, deve se submeter a rigoroso controle dessas patologias.

Como auxílio nessa tarefa, várias substâncias como clorexidina, hidróxido de cálcio e hipoclorito de sódio, em várias concentrações, têm sido propostas (Kuruvilla & Kamath⁷ 1998; Portainer *et al*¹⁴ 2006).

Nos canais os estudos vêm demonstrando que além da ação direta sobre bactérias, a clorexidina interfere na aderência desses microrganismos às superfícies dentinárias (Yang *et al*¹⁷ 2006).

Os compostos clorados possuem ampla utilização na saúde, especialmente na Odontologia. Usados como saneadores e desinfetantes podem estar associados a veículos orgânicos e inorgânicos (Estrela *et al*² 2002).

Os resultados com hipoclorito de sódio são considerados por muitos autores como altamente satisfatórios. Mesmo quando comparado a antibióticos específicos, vem demonstrando alto grau de destruição

*Doutor em Ciências da Saúde – UnB

Professor Titular de Endodontia da Universidade Paulista – UNIP-DF

1 Pesquisa Financiada pela Vice-Reitoria de Pós-graduação e Pesquisa da UNIP

microbiana, com razoável efeito residual (Estrela *et al*² 2002).

Vários estudos vêm sendo desenvolvidos a respeito da ação clínica da própolis, tanto na cavidade bucal, quanto no tratamento de gengivites crônicas moderadas e graves, de difícil controle e estomatites de diferentes origens, onde, relatos de casos clínicos apoiaram a efetividade encontrada com utilização da própolis (Ledon *et al*³ 1997).

Ferreira *et al*³ (2007), identificaram que o extrato de própolis proporcionou potencial de inibição semelhante a substâncias como paramonoclorofenol, formocresol e hidróxido de cálcio, não havendo diferença significativa entre as substâncias testadas. Observaram, ainda, que dos microrganismos testados o *E. faecalis* foi o que apresentou menor grau de inibição.

Os testes "in vitro" para os novos materiais têm o objetivo de evitar ou diminuir o tempo e o custo de tentativas clínicas. Por sua eficiência, podem

também eliminar a ocorrência de efeitos indesejáveis no organismo, que podem surgir a longo prazo.

MATERIALE MÉTODOS

Foram selecionados, aleatoriamente, 80 molares humanos recém-extraídos. Os dentes foram estocados em água destilada e submetidos à 1ª esterilização em autoclave. As raízes foram raspadas e limpas. Em seguida foram seccionadas, transversalmente, na junção amelo-cementária e seus ápices removidos com ponta diamantada, montada em alta rotação, seguida por lavagem em água corrente por 24 horas. Em seguida as raízes foram desidratadas em estufa a 37° C por 48 horas. Após desidratação, os ápices foram selados com cimento de ionômero de vidro (Vidrion R SS White - Rio de Janeiro - RJ - Brasil) e fixados em suportes de acrílico transparente (Acrix - São Paulo - SP - Brasil). A fixação de cada amostra foi de maneira individual

para possibilitar a instrumentação e irrigação, sem que houvesse interferência nas amostras subsequentes.

Em seguida os modelos (raízes + suportes) foram distribuídos aleatoriamente e armazenados, em 8 grupos contendo 10 raízes cada, conforme os procedimentos de instrumentação e de uso de substâncias químicas auxiliares.

Os grupos foram autoclavados, 2ª esterilização, para impedir a contaminação microbiana. Todo material foi, então, disponibilizado para contaminação.

Após esterilização, os canais foram preenchidos com caldo de cultura BHI (Biobrás - Montes Claros - MG - Brasil), contendo cepas puras de *E. faecalis*, *Enterococcus faecalis* (ATCC® 19433 SIGMA - USA) padrão nefelométrico mínimo - MacFarland 7, até a abertura cervical. Em seguida, armazenados em estufa 37° C, 100% de umidade por 30 dias. Para viabilizar o crescimento microbiano, os canais foram totalmente preenchidos com caldo BHI (Biobrás Montes Claros - MG - Brasil), a cada 48 horas.

Para instrumentação, conforme **Tabela 1**, adotou-se dois métodos: manual - quatro grupos com numeração **1**, por terços no sentido cérvico-apical e mecanizado com sistema Profile® (*Dentsply - Maillefer - Swiss*) com numeração **2**, os grupos restantes.

Para utilização dos agentes químicos as raízes foram divididas em grupos conforme as iniciais das substâncias, ou seja **C** para clorexidina, **H** para hipoclorito, **P** para própolis e **S** para soro fisiológico.

A irrigação com seringas descartáveis de 20ml acompanhou o estabelecido na prática clínica.

Transcorrido o período de 48 horas, após preparo químico-mecânico, foram inoculados nos canais caldo BHI para armazenamento por mais 24 horas em estufa a 37° C, umidade 100%. Após esse período coletou-se o conteúdo de cada canal com cones de papel esterilizados (Tanari - Manacapuru - AM - Brasil) e, em seguida, inoculados em tubo de ensaio contendo caldo BHI. Após 48 horas avaliou-se o grau de turvação de cada tubo utilizando conforme a escala de *McFarland*.

Verificado o controle das amostras, os dados foram tratados estatisticamente pelo método *Man-Whitney test*.

Esta pesquisa possui registro CEP/UNIP

Tabela 1 – Distribuição dos grupos segundo critério de instrumentação, substância irrigadora

Substância	Clorexidina 2%	Hipoclorito de sódio 1%	Própolis 4%	Soro Fisiológico
Técnica				
Manual	C1 10 raízes	H1 10 raízes	P1 10 raízes	S1 10 raízes
Mecanizada	C2 10 raízes	H2 10 raízes	P2 10 raízes	S2 10 raízes

Tabela 2 – Avaliação do padrão de crescimento de *E. Faecalis* em raízes de dentes humanos submetidas à instrumentação mecanizada e substâncias irrigadoras

substância Irrigadora	Grau de turvação seguindo padrão nefelométrico de MacFarland				Amostras
	Zero	1 - 3	4 - 6	7 - 10	
Clorexidina 2% *	0	3	5	1	10
Hipoclorito 1%	0	0	5	5	10
Própolis 4%	0	0	3	7	10
Soro fisiológico	0	0	0	10	10

* Resultados estatisticamente significantes – Mann Whitney test para p > 0,05.

Tabela 3 – Avaliação do padrão de crescimento de *E. faecalis* em raízes de dentes humanos submetidas à instrumentação manual e substâncias irrigadoras

substância Irrigadora	Grau de turvação seguindo padrão nefelométrico de MacFarland				Amostras
	Zero	1 - 3	4 - 6	7 - 10	
Clorexidina 2% *	2	5	3	0	10
Hipoclorito 1%	0	2	7	1	10
Própolis 4%	0	2	3	5	10
Soro fisiológico	0	0	0	10	10

* Resultados estatisticamente significantes – Mann Whitney test para p > 0,05.

SP, registrado no CONEP/CNS/MS em 31/10/2003 e renovado em 15/03/2007 por protocolo interno número ODT 135/2007.

RESULTADOS

Os resultados encontram-se descritos nas Tabelas 2 e 3

DISCUSSÃO

O controle microbiano é um dos principais objetivos da terapia endodôntica. Os procedimentos em endodontia devem, freqüentemente, considerar a presença de microrganismos na região pulpo-periapical e sua repercussão (Siqueira Jr *et al*¹⁵ 2007).

Com isso, a oferta de procedimentos biomecânicos auxiliados por antimicrobianos desafia constantemente a prática do cirurgião-dentista.

A presente pesquisa comparou o comportamento de diferentes substâncias na inibição do crescimento de *E. faecalis*, por meio de sua inserção direta dentro do sistema de canais.

Na primeira fase verificou-se como satisfatório o método de contaminação dos canais. Reproduzindo o modelo original de Haapasalo & Orstavik⁵ (1987), a contaminação por *E. faecalis* mostrou-se eficiente e segura.

Quanto a análise das substâncias irrigadoras, a clorexidina 2% e o hipoclorito de sódio 1%, apresentaram resultados semelhantes aos já apontados na literatura, como Dameto *et al*¹ (2005), Oliveira *et al*¹¹ (2007).

As duas substâncias concentram o maior volume de trabalhos dirigidos a essa finalidade. O hipoclorito de sódio continua sendo mais difundido na endodontia mundial, por apresentar além de características de inibição satisfatórias, facilidade de aquisição e baixo custo.

No presente experimento a clorexidina 2% ofereceu melhor desempenho que o hipoclorito de sódio 1%. E, ambas demonstraram capacidade antibacteriana significativamente superior à própolis 4%.

Embora descrita por diversos autores como eficiente fármaco de propriedades múltiplas tais como analgésica, antimicrobiana, antiinflamatória, antitumoral, antiviral e antiparasitária, seu comportamento, nas condições descritas neste experimento, frustrou as expectativas sobre seu potencial antimicrobiano, apresentando comportamento próximo ao soro

fisiológico (Pereira *et al*¹³ 2002).

A análise biológica da própolis é considerada de difícil interpretação devido à grande quantidade de substâncias presentes em sua composição. Outro aspecto relevante é que amostras de diferentes culturas de abelhas apresentam discrepâncias significativas em suas composições. Com isso, a extrapolação clínica dos resultados em ensaios laboratoriais deve guardar certa reserva, pois, dificilmente, um profissional de outra região conseguirá obter um produto de composição idêntica. Como consequência, alguns autores a situam como verdadeira panacéia medicamentosa, decorrente do somatório de efeitos ocasionados por sua administração, em diversos ensaios experimentais.

Pereira *et al*¹³ (2002), descrevem a correlação entre alguns componentes da própolis e seus efeitos biológicos. Relatam que mais de 300 constituintes já foram identificados e/ou caracterizados, dentre eles: flavonóides, ácidos aromáticos, ácidos graxos, fenóis, aminoácidos, vitaminas A, B1, B2, B6, C, E, PP e minerais como Mn, Cu, Al, Si, V, Ni, Zn e Cr. Com isso, grupos químicos como flavonóides, cafeato de feniletina, diterpenóides, além de outros grupos alifáticos, cetônicos e aromáticos, estariam diretamente vinculados a alguns de seus efeitos biológicos.

No Brasil seus estudos ainda são incipientes, merecendo maior atenção de pesquisadores em saúde quanto aos resultados atribuídos a partir de sua administração.

Outro aspecto, notadamente relevante, consiste nos volumes disponibilizados para comércio. Para procedimentos de irrigação copiosa sua utilização na rotina odontológica se torna inviável pelos custos apresentados.

Law & Messer⁸ (2004), destacam que tanto a ação de irrigação quanto a adoção de medicação intracanal são determinantes na diminuição da quantidade de microrganismos no sistema de canais.

Embora as associações sejam desejáveis quando verificadas suas ações sinérgicas, Marchesan *et al*¹⁰ (2007), destacam a associação entre clorexidina e hipoclorito de sódio na terapia do sistema de canais. Os autores observaram a formação de precipitados, capazes de interferir no potencial antimicrobiano e de pigmentar as superfícies dentárias.

Outro aspecto apontado na presente pesquisa foi o melhor desempenho das amostras instrumentadas pela técnica manual.

A técnica mecanizada embora apresente como característica mais desejável a preservação da anatomia dos canais, sua aplicação se mostra mais eficiente em canais cuja estrutura tridimensional se assemelha à forma dos instrumentos.

Nos canais de anatomia distinta, em fita, amplos ou repleto de ramificações, o controle manual vem demonstrando maior eficiência.

Esse comportamento heterogêneo sugere, para alguns autores, a adoção de metodologia híbrida onde áreas mais amplas sejam trabalhadas de maneira manual e pontos de anatomia mais complexa - curvaturas excessivas, duplas curvaturas e canais sinuosos - por instrumentos mecanizados.

CONCLUSÕES

Considerando a metodologia adotada e os resultados obtidos, é pertinente concluir que:

- 1 - Todas as substâncias teste apresentaram potencial de inibição microbiana, sendo a clorexidina 2% e o hipoclorito de sódio 1% estatisticamente superiores à própolis e ao soro fisiológico;
- 2 - A técnica de instrumentação manual mostrou-se mais eficiente que a mecanizada no tocante à diminuição de microrganismos;
- 3 - Pesquisas "in vivo", quanto ao uso dessas substâncias, devem ser realizadas, em especial, quanto ao seu comportamento frente aos tecidos humanos.

SUMMARY

The physical-chemical properties of the auxiliary substances are determiners to the success of the endodontic therapy. The aim of the present study was to evaluate the antimicrobial ability of the aqueous solution of 2% chlorhexidine, 1% sodium hypochlorite, aqueous solution of 4% própolis and saline solution. The methodology consisted in 80 human molar extracted recently, all contaminated with *E. faecalis* strain. The specimens were set in groups with ten teeth each. The root canal biomechanical preparations were following either rotator NiTi instruments or manual techniques and then submitted

to copious irrigation with the usage of those test substances. Results have shown that efficiency in the grown bacterial inhibition of irrigation substances has acted in a decreasing way, 2% chlorhexidine, 1% sodium hypochlorite and 4% propolis, one of which the first two showed statistically significant differences *Mann Whitney test* ($p < 0.05$). It was also noticed that manual instrumentation was able to offer higher efficacy in decreasing microorganism's amount. However, this difference could not be found as significant *Mann Whitney test* ($p < 0.05$). Despite the mechanical behavior at the root canal system, it cannot be asserted that differences referring to antimicrobial control were observed between both of instrumentation.

UNITERMS

Irrigation, 2% chlorhexidine, 1% sodium hypochlorite, 4% propolis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dameto FR, Ferraz CR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. 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* 2005jun;99(6):768-72.
2. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action sodium hypochlorite. *Braz Dent J* 2002feb;13(2): 113-7.
3. Ferreira FBA, Torres AS, Rosa OPS, Ferreira CM, Garcia RB, Marcucci MC, Gomes BPFA. Antimicrobial effect of propolis and other substances against select endodontic pathogens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007nov;104(5):709-16.
4. Glosson CR, Haller RH, Dove B, Del Rio CE. A comparison of root canal preparations using Ni-Ti hand Ni-Ti engine-driven, and K-flex endodontics instruments. *J Endod* 1995mar;21(3):146-51.
5. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987aug;66(8):1375-9.
6. Knowles KI, Ibarrola JL, Christiansen RK. Assessing apical deformation and transportation following the use of Light Speed root-canal instruments. *Int Endod J* 1996mar;29(2):113-7.
7. Kuruvilla JR, Kamath MP. Antimicrobial activity of 2,5% sodium hypochlorite and 0,2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J Endod* 1998jul;24(7):472-6.
8. Law A, Messes H. An evidenc-based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. *J Endod* 2004oct;30(10):689-94.
9. Ledon N, Casaco A, Gonzalez R, Merino N, Gonzalez A, Tolon Z. Antipsoriatic, anti-inflammatory, and analgesic effects of na extract of red propolis. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao*. 1997may;18(3):274-6.
10. Marchesan MA, Pasternak JR B, Afonso MMF, Sousa-Neto MD, Pascholato C. Chemical analysis of the flocculate formed by association of sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007may;103(5):e103 e105.
11. Oliveira DP, Barbizam JVB, Trope M, Teixeira FB, Hill C. In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007may; 103(5):702-6.
12. Oliveira L & Toledo OA. Avaliação in vitro do potencial antimicrobiano de substâncias em canais de incisivos bovinos contaminados por *E. faecalis*. *Rev Fac Odont Anápolis* 2005jan-jul;7(1):37-40.
13. Pereira AS, Seixas FRMS, Aquino Neto FR. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. *Quim Nova*. 2002feb;25(2):321-6.
14. Portenier I, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. Killing of *Enterococcus faecalis* by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA. *J Endod* 2006feb; 32(2):138-41.
15. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Paiva SSM, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007jul;104(4):122-30.
16. Takahashi K. Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. *Int Endod J* 1998sept;31(5):311-25.
17. Yang SE, Cha JH, Kim ES, Kum KY, Lee CY, Jung IY. Effect of Smear Layer and Chlorhexidine Treatment on the Adhesion of *Enterococcus faecalis* to Bovine Dentin. *J Endod* 2006july;32(7):633-7.

AUTOR RESPONSÁVEL

Laudimar Alves de Oliveira
Universidade Paulista UNIP
SGAS Qd. 913, s/n Conj. B Bl. F,
subsolo
E-mail: laudimar.oliveira@gmail.com

Recebido para publicação: 26/03/2008
Aceito para publicação: 08/05/2008