

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE SUBSTÂNCIAS AUXILIARES EM CANAIS DE INCISIVOS BOVINOS CONTAMINADOS POR *E. FAECALIS*

An *in vitro* evaluation of antimicrobial properties of auxiliary substances in bovine incisors root canals contaminated with *E. faecalis*

Laudimar Alves de Oliveira*
Orlando Ayrton Toledo**

RESUMO

A descontaminação do sistema de canais figura como condição fundamental ao êxito no tratamento endodôntico. O presente trabalho analisou o potencial antimicrobiano do hipoclorito de sódio, 1% e 5%, da clorexidina 2%, gel e aquosa, e da solução aquosa saturada de hidróxido de cálcio associada ao lauril sulfato de sódio - HCT₂₀, por meio de escoamento turbilhonar. Como metodologia adotou-se a irrigação copiosa de canais incisivos bovinos contaminados por cepas de *E. faecalis*. Os resultados apontaram que a clorexidina 2% apresentou superioridade, estatisticamente significativa, às demais substâncias, quanto à inibição do *E. faecalis*. Corroborando outros experimentos a solução de hidróxido de cálcio não demonstrou potencial antimicrobiano satisfatório em nenhuma amostra. Considerando a importância desse grupo microbiano nas patologias periapicais, a clorexidina 2%, gel e aquosa, apresentou-se como substância mais efetiva para ação antimicrobiana na terapia do sistema de canais.

UNITERMOS

Clorexidina; Hipoclorito de sódio; Hidróxido de cálcio; HCT₂₀; Irrigação

INTRODUÇÃO

A propriedade antimicrobiana representa um requisito essencial na seleção das substâncias auxiliares na terapia do sistema de canais radiculares.

O controle de microrganismos por meio da instrumentação associada ao uso de substâncias auxiliares consiste num dos principais objetivos do tratamento endodôntico.

A limpeza efetiva dos canais radiculares depende da remoção mecânica dos restos teciduais e microrganismos, acompanhada pela ação físico-química das substâncias auxiliares.

Todavia, diversas irregularidades verificadas nesse sistema dificultam a limpeza desejada. Canais exíguos, canais colaterais e deltas apicais são alguns exemplos desses acidentes.

O padrão de instrumentação gradual que consiste na remoção por terços dos restos teciduais e microrganismos representa senso comum na endodontia.

Entretanto, ainda persiste a busca pela substância auxiliar ideal que atenda aos requisitos reológicos, químicos e antimicrobianos.

REVISÃO DE LITERATURA

Um conhecido axioma refere que, para o êxito no tratamento endodôntico, mais importante é o que se retira do canal e não o que se coloca.

A presença de microrganismos nas reentrâncias do sistema de canais radiculares requer o uso de fármacos que ofereçam um largo espectro de ação. Os *Enterococcus faecalis* participam de maneira importante dessa microbiota.

Pinheiro et al.¹⁰ (2003), verificaram o predomínio desse gênero bacteriano em lesões apicais de 51 dentes tratados endodonticamente.

O hipoclorito de sódio, em várias concentrações, apresenta-se como desinfetante mais utilizado. Embora, com considerável efetividade sofre, proporcionalmente, restrições pela elevada irritabilidade tecidual.

A clorexidina, anti-séptico de largo espectro, disponível a 2% em solução aquosa ou associada ao gel natrosol, apresenta-se como alternativa nessa terapia Ferraz et al.⁴ (2001).

Almuroudi et al.¹ (2002), utilizando *E. faecalis* para contaminação dentinária, por períodos de 3, 8 e 14 dias, observaram na clorexidina, aquosa e em gel, alto potencial antimicrobiano, com ligeira superioridade para o gel. No mesmo trabalho, apontaram que a pasta de hidróxido de cálcio mostrou-se eficiente somente nos períodos de 3 e 8 dias.

Gomes et al.⁵ (2003), analisaram o gel de clorexidina 2% comparado à solução de hidróxido de cálcio e polietilenoglicol como curativos de demora. A clorexidina apresentou alta capacidade de inibição do *E. faecalis*. Em contrapartida, o hidróxido de cálcio permitiu seu crescimento em todos os períodos.

O hidróxido de cálcio, substância alcalina forte, possui na forma pura considerável efeito bactericida. Barbosa et al.² (1994), idealizaram a associação da solução aquosa saturada do hidróxido de sódio com lauril sulfato de sódio visando melhorar suas propriedades reológicas. Os autores verificaram que essa associação, denominada HCT₂₀, inibiu o crescimento de 90,90% das cepas bacterianas

*Doutor em Ciência da Saúde - UnB, Prof. Titular de Endodontia e Microbiologia FOA-Go e UNIP/DF.

**Doutor em Odontopediatria - UNESP, Prof. Titular de Odontopediatria UnB.

analisadas em contato direto por períodos superiores a 10 min.

Contrariando esses dados, Siqueira Júnior & Lopes¹¹ (1999), concluíram que a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio apresenta-se restrita a alguns gêneros bacterianos.

Em acréscimo, Waltimo et al.¹² (1999), analisando a suscetibilidade da *C. albicans* e *E. faecalis* à solução aquosa de hidróxido de cálcio, verificaram que não houve ação efetiva contra essas espécies microbianas.

Vários modelos experimentais são propostos com a finalidade de obter a substância ou associação que atenda às exigências verificadas nessa terapêutica, destacando-se o de Haapasalo & Orstavik⁶ (1987), com contaminação dentinária, *in vitro*, de dentes bovinos, por cepas de *E. faecalis*, e subsequente descontaminação com diversos anti-sépticos.

É, portanto, objetivo deste trabalho avaliar o potencial antimicrobiano do hipoclorito de sódio, 1% e 5%, da clorexidina 2%, aquosa e gel, e da solução aquosa saturada de hidróxido de cálcio em associação com lauril sulfato de sódio - HCT₂₀ em canais de incisivos bovinos contaminados por cepas de *Enterococcus faecalis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 110 incisivos bovinos recém-extraídos e autoclavados. Em seguida, suas raízes foram limpas, seccionadas transversalmente na junção amelo-cementária e a cinco milímetros do ápice. Os canais foram instrumentados com brocas de Gates Glidden # 2 (Maillefer - Dentisply - USA) e posteriormente, lavados em água corrente, por 24 hs.

Em seguida, as raízes seladas apicalmente com ionômero de vidro (Vidrion R - SS White - Rio de Janeiro - RJ - Brasil); isoladas com adesivo epóxi (Araldite - Brascola - São Bernardo do Campo - SP - Brasil) e fixadas em suportes com cianoacrilato (Superbonder - Henkel Loctite - São Paulo - SP - Brasil). Para contaminação foram utilizadas cepas de *E. faecalis* liofilizadas (ATCC[®] 19433, lote 93-05sv) cultivadas em caldo de *Thioglicolato* (DIFCO - Maryland - USA), inoculadas no sistema de canais armazenados em estufa a 37°C, por 45 dias.

A distribuição microbiana no sistema de canais foi verificada por meio de microscopia eletrônica de varredura (JEOL JEM 840A - USA).

Para descontaminação foi realizada irrigação copiosa dos canais, seguindo tabela 1, com seringas descartáveis de 20ml (Bekton Dickinson - Curitiba - PR - Brasil), a cada 15 minutos, durante duas horas. Em seguida, inoculou-se meio de *Thioglicolato* com subsequente armazenamento a 37°C, por 72 hs. Durante o período, a descontaminação foi avaliada pela inserção de cones de papel estéril, nos períodos de 24 hs e 72 hs, acompanhada por imersão em tubos de ensaio contendo meio de *Thioglicolato* estéril. A

descontaminação foi avaliada, em espectrofotômetro (Femto 600 - Tecnal - Laboratórios - Itaboraí - São Paulo - SP), pelo grau de turvação dos tubos de ensaio

com meio de *Thioglicolato* contendo cones de papel comparados à escala nefelométrica de *McFarland*.

Tabela 1 - Substâncias auxiliares utilizadas na irrigação de canais de incisivos bovinos por 2 hs, contaminadas por cepas de *E. faecalis*

Grupo	Substância	Concentração	Amostras
1	Solução fisiológica	0,9%	10
2	Hipoclorito de sódio	1,0%	20
3	Hipoclorito de sódio	5,0%	20
4	HCT ₂₀	1,2% Ca(OH) ₂ 20% lauril-sulfato-sódio	20
5	Gel de clorexidina	2,0%	20
6	Solução aquosa de clorexidina	2,0%	20

RESULTADOS

Os resultados encontram-se descritos nas tabelas 2 e 3 e figura 1.

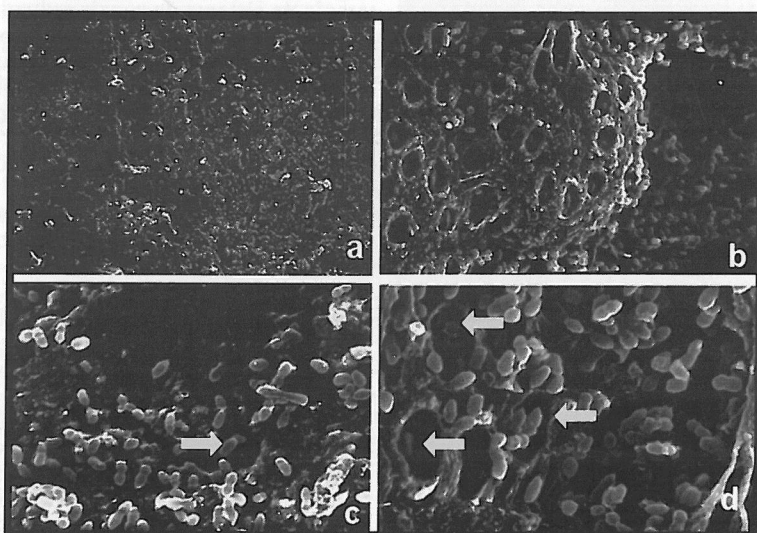


Figura 1 - Fotomicrografias MEV - distribuição *E. faecalis* em túbulos dentinários. (a) 1.000X, grau de contaminação do lume do canal; (b) 3.000X, ausência de fatores de interferência nos túbulos dentinários; (c) 5.000X, penetração de *E. faecalis* nos túbulos e (d) 7.000X, relação da dimensão túbulo dentinário e *E. faecalis* (setas).

Tabela 2 - Crescimento de *E. faecalis* em canais de incisivos bovinos submetidos a escoamento turbilhonar com substâncias auxiliares pelo período de 2 hs. Observação por 24 hs

Substâncias	Grau de turvação seguindo padrão nefelométrico de <i>McFarland</i>				Amostras
	Zero	1 - 3	4 - 6	7 - 10	
Clorexidina 2% gel*	8	8	4	0	20
Clorexidina 2% liq.*	4	12	4	0	20
Hipoclorito 1%*	0	4	8	8	20
Hipoclorito 5%*	5	10	5	0	20
HCT ₂₀	0	2	6	12	20
Soro Fisiológico	0	0	0	10	10

*Amostras que apresentaram diferença estatisticamente significante comparativamente ao soro fisiológico - *Mann-Whitney test* - $p = 0,005$

Tabela 3 - Crescimento de *E. faecalis* em canais de incisivos bovinos submetidos a escoamento turbilhonar com substâncias auxiliares, pelo período de 2 hs. Observação após 72 hs.

Substâncias	Grau de turvação seguindo padrão nefelométrico de McFarland				Amostras
	Zero	1 - 3	4 - 6	7 - 10	
Clorexidina 2% gel*	0	12	8	0	20
Clorexidina 2% liq.*	2	14	4	0	20
Hipoclorito 1%	0	0	4	16	20
Hipoclorito 5%*	5	10	5	0	20
HCT ₂₀	0	0	2	18	20
Soro Fisiológico	0	0	0	10	10

*Amostras que apresentaram diferença estatisticamente significante comparativamente ao soro fisiológico - *Mann-Whitney test* - $p = 0,005$

DISCUSSÃO

A descontaminação do sistema de canais apresenta-se como imprescindível no tratamento endodôntico.

No presente trabalho, considerando sua relevância nas patologias pulpo-periapicais adotou-se o gênero *Enterococcus* para análise da ação antimicrobiana. O método da contaminação dentinária prévia, introduzida por Haapasalo & Orstavik⁶ (1987), mostrou-se satisfatório.

Para confirmação da contaminação dentinária adotou-se a microscopia de varredura. Esse método ofereceu três evidências: (i) - ausência de fatores de interferência; (ii) - contaminação gnotobiótica; (iii) - período de contaminação satisfatório.

A seleção dos agentes antimicrobianos considerou os fármacos e as concentrações adotadas no mercado.

Algumas substâncias apresentam alta capacidade de neutralização microbiana; porém verifica-se limitação quanto ao período de ação. Neste trabalho, essa limitação se fez presente. O HCT₂₀ foi a substância de desempenho menos significativo na inibição de cepas de *E. faecalis*. Em algumas amostras, a solução de hidróxido de cálcio apresentou comportamento idêntico ao soro fisiológico. O aumento de crescimento microbiano nas coletas de 24 hs para 72 hs, corrobora as evidências quanto a sua baixa ação residual.

Waltimo et al.¹² (1999), verificaram que a solução aquosa de hidróxido de cálcio não demonstrou o efeito antimicrobiano esperado no sistema de canais, tanto com *E. faecalis* quanto com *C. albicans*.

Neste experimento, confirmou-se o hipoclorito de sódio como eficiente antimicrobiano, com destaque à concentração de 5%. Na concentração de 1% embora presente, sua descontaminação mostrou-se limitada não oferecendo

individualmente o controle efetivo de microrganismos.

Enquanto a clorexidina 2% conseguiu em parte das amostras inibição completa, 32% na forma gel e 10% na líquida, o HCT₂₀ e o hipoclorito 1% não promoveram essa inibição. Contudo, 8% das amostras de clorexidina gel e 16% da solução aquosa não apresentaram inibição.

O HCT₂₀ não inibiu 73% das amostras submetidas contra 65% do hipoclorito de sódio 1%.

White et al.¹³ (1997), apontam para os efeitos residuais da clorexidina, em concentrações e veículos diferentes. Neste trabalho, verificou-se um efeito residual de até 72 hs, com evidente superioridade para forma gel.

Esses dados, confirmados na presente pesquisa, também são apoiados por Ferraz et al.⁴ (2001).

Convém enfatizar que o gênero *E. faecalis* consiste num grupo de grande importância, como demonstrado, nas patologias pulpo-periapicais, com destaque às infecções persistentes e re-infecções, sendo sua resistência a fármacos considerada como padrão, na indicação de substâncias. Portanto, torna-se crítica a adoção de uma substância sabidamente ineficiente contra esse grupo microbiano Love⁸ (2001).

Nesta pesquisa ficou evidente que a ação exclusiva dessas substâncias não se mostrou suficiente para a inibição microbiana e, ao mesmo tempo, para promoção de uma limpeza eficiente.

Com isso, reforça-se a aplicação de técnica de instrumentação eficiente visando a remoção consistente do conteúdo intra-canal acompanhada de substância antimicrobiana que neutralize os remanescentes microbianos.

CONCLUSÕES

Considerando-se as variáveis estudadas, é pertinente afirmar-se que:

- A clorexidina 2%, solução aquosa e gel, mostrou-se eficiente, com diferença estatisticamente significante, na inibição do *E. faecalis*, em canais de incisivos bovinos submetidos à ação de substâncias, em fluxo turbilhonar;
- O HCT₂₀ apresentou desempenho mais fraco na inibição de cepas de *E. faecalis*;
- A eleição de qualquer das substâncias testadas requer uma análise mais detalhada quanto à tolerância tecidual na região periradicular.

SUMMARY

The antimicrobial ability is a very important aspect of a root canal irrigant. So, this work evaluated the antimicrobial capacity of 1% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, aqueous and gel, and calcium hydroxide solution associated with detergent (HCT₂₀). Then the antimicrobial capacity of the substances was tested by whirlwind flows in root canals of bovine incisors infected by *E. faecalis*. The results showed that 2% chlorhexidine, aqueous and gel, was superior than the others substances in eliminating *E. faecalis* in the root canal system. Thus, considering the relevance of this microbial group for the periapical diseases, the results suggest that the 2% chlorhexidine has the most effective antimicrobial ability in the root canal system.

UNITERMS

Chlorhexidine; Sodium hypochlorite; Calcium hydroxide; HCT₂₀; Whirlwind flow.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almyroudi A, Mackenzie D, Mchugh S, Saunders W. P. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an in vitro study. *J Endod* 2002 mar;28(3):163-7.
2. Barbosa SV, Spangberg LW, Almeida D. Low surface tension calcium hydroxide solutions is an effective antiseptic. *Int Endod* 1994 jan;27(1):6-10.
3. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action sodium hypochlorite. *Braz Dent J* 2002 feb;13(2):113-7.
4. Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod* 2001 jul;27(7):452-5.
5. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J* 2003 apr;36(4):267-75.
6. Haapasalo M, Orstavik, D. In vitro infection and disinfection of dental tubules. *J Dent Res* 1987 aug;66(8):1375-9.
7. Haenni S, Schmidlin PR, Mueller B, Sener B,

Zehnder M. Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. Int Endod J 2003 feb;36(2):100-5.

8. Love RM. Enterococcus faecalis - a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J 2001 july;34(5):399-405.

9. Lynne RE, Liewehr FR, West LA, Patton WR, Buxton TB, Mcpherson JC. In vitro antimicrobial activity of various medication preparations on E. faecalis in root canal dentin. J Endod 2003 mar;20(3): 187-90.

10. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ.

Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. Int Endod J 2003 jan;36(1):1-11.

11. Siqueira Júnior JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. Int Endod J 1999 sept;32(5):361-9.

12. Waltimo TMT, Sirén EK, Orstavik D, Haapasalo MPP. Susceptibility of oral Cândida species to calcium hydroxide in vitro. Int Endod J 1999 mar;32(2):94-8.

13. White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. J Endod 1997

apr;23(4):229-32.

AUTOR RESPONSÁVEL

Laudimar Alves de Oliveira

Sqs 210 bloco K aptº 408

Brasília - DF - CEP 70273-110

Telefone : (61) 242 95 06

E-mail: laudimar_oliveira@yahoo.com.br

Recebido para publicação em 19/03/2005.

Aceito para publicação em 26/06/2005.

ODONTO

JARDIM AMÉRICA

Dr. Marlos J. R. Forzani

Clínico Geral
CRO GO 4634

Dr. Warley F. de Morais

Ortodontia - Ortopedia Funcional
Dor oro-facial
CRO GO 4170

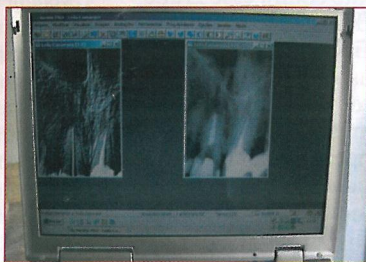
Dr. Wellington F. de Morais

Implantes/prótese/sobre-implantes
CRO GO 4104

Rua C-104 esq. c/ Rua C-131 - Sala 05 - Jardim América - Fone (62) 3286-4047

VIVARE

ODONTOLOGIA



Rx Digital

Menor tempo de exposição ao Rx

Redução do tempo de sessão

Precisão no diagnóstico (fraturas, odontometria)

Francisco de Assis Ferreira - CRO - 3831

ESPECIALISTA

✓ Endodontia

✓ Implantodontia

Tel. [62] 3941- 90 88

3942 - 90 88

Rua T- 49 N° 142 - ST. Bueno - Goiânia - GO