

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE AGENTES FITOTERÁPICOS E QUÍMICOS UTILIZADOS EM ODONTOLOGIA

Thais Nayara Cestari¹
Karina Straioto Vieira¹
Veruska de João Malheiros Pfau²
Eduardo Augusto Pfau²

CESTARI, T. N.; VIEIRA, K. S.; PFAU, V. J. M. de; PFAU, E. A. Atividade antimicrobiana de agentes fitoterápicos e químicos utilizados em odontologia. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, Umuarama, v. 17, n. 1, p. 19-22, jan./abr. 2013.

RESUMO: A cavidade bucal abriga uma variada microbiota indígena, a qual é favorecida pelas características anatomo-fisiológicas desse local. Os micro-organismos, principalmente bactérias e fungos, podem persistir no sistema de canais radiculares após o tratamento endodôntico, podendo assim, induzir uma reação inflamatória. O tratamento dessas infecções consiste basicamente na limpeza e desinfecção, utilizando métodos mecânicos e/ou químicos adequados à técnica preconizada, como o uso das substâncias químicas irrigadoras. Este trabalho tem como objetivo verificar a ação antimicrobiana de agentes químicos e fitoterápicos que podem ser utilizados para irrigação em endodontia. As soluções foram testadas em duplicata por meio do método de disco-difusão, frente a culturas de *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, que são micro-organismos comuns ou possíveis no ambiente bucal ou cepas padrão para estudos *in vitro*. Dentre os agentes testados a clorexidina 0,12% e 2% foi o agente que apresentou maior efetividade antimicrobiana para as cepas envolvidas nesta pesquisa, seguida pelo hipoclorito a 1%, o qual apresentou halos menores. Em relação aos fitoterápicos testados, a Malvatricin® foi o agente que apresentou maior efetividade antimicrobiana para um maior número de espécies de micro organismos avaliados. Mas sua pequena efetividade sobre as cepas de *E. coli*, sugere uma possível inatividade frente a bactérias Gram-negativas. Assim torna-se importante a execução de mais testes envolvendo diferentes cepas e novos produtos para melhorar as opções de soluções irrigadoras utilizadas na odontologia.

PALAVRAS-CHAVE: Endodontia; Desinfecção; Irrigantes; Medicamentos fitoterápicos.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF HERBAL AND CHEMICALS AGENTS USED IN DENTISTRY

ABSTRACT: The oral cavity hosts a diverse indigenous microbiota, which is favored by its anatomical and physiological characteristics. Microorganisms, mainly bacteria and fungi, can persist in root canals after endodontic treatment, which can induce an inflammatory response. The treatment for these infections is basically cleaning and disinfection using suitable mechanical and/or chemical methods according to each technique, such as the use of irrigating chemical substance. This study has the main objective of determining the antimicrobial action of chemical and herbal agents to be used for endodontic irrigation. The solutions were tested in doubles using a disk-diffusion method, being compared to *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* cultures, which are common or possible microorganisms in the oral environment or standard strains for *in vitro* studies. Among the agents tested, 0.12% and 2% chlorhexidine was the agent presenting the greatest antimicrobial effectiveness regarding the strains involved in this research. Followed by 1% hypochlorite, which showed smaller halos. Regarding herbal test, Malvatricin® is the agent that presented the greatest antimicrobial effectiveness to a large number of microorganism species assessed. However, its low effectiveness on *E.coli* strains suggests possible inactivity against Gram-negative bacteria. Thus, further studies involving different strains and new products are necessary to improve the options for irrigating solutions used in dentistry.

KEYWORDS: Endodontics; Disinfection; Irrigants; Phytotherapeutic drugs.

Introdução

As características anátomo-fisiológicas da cavidade bucal são responsáveis pelo desenvolvimento de um ecossistema complexo e diversificado de espécies microbianas na boca. Segundo Caires (2005), essa microbiota pode variar quanto à tensão de oxigênio, disponibilidade de nutrientes, temperatura e exposição aos fatores imunológicos do hospedeiro.

Os micro organismos, principalmente bactérias e fungos, juntamente com seus produtos, estão estritamente relacionados com a etiologia das lesões pulpares e periapicais e podem persistir no sistema de canais radiculares após o tratamento endodôntico, podendo assim, induzir uma reação inflamatória (VALERAL, 2009). Para que o tratamento endodôntico, seja bem sucedido é necessário limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares (SIQUEIRA JR et al., 1999). Assim, é importante que o preparo biomecânico seja realizado dentro dos princípios da técnica preconizada,

e o profissional saiba eleger o medicamento melhor indicado para cada situação clínica, tendo conhecimento de suas vantagens e desvantagens. É indispensável que entre as características da solução esteja: a ação antibacteriana e também a de solvente tecidual (SIQUEIRA JR et al., 1999). Segundo Michelotto et al., (2008) o uso de solução irrigante durante o ato mecânico proporciona uma melhora significativa na limpeza, em virtude da ação física da circulação do líquido pelo interior do canal radicular, aliado a ação química de controlar e diminuir a quantidade de micro organismos presentes. Várias soluções irrigadoras são empregadas em endodontia, sendo que, o hipoclorito de sódio é um produto que pode ser encontrado em várias concentrações e é o mais utilizado na irrigação de canal. Porém é muito instável, podendo perder considerável quantidade de cloro ativo, se armazenado inadequadamente (SIQUEIRA JR et al., 1999). Essa solução tem propriedade lubrificante, atua como agente clareador, solvente tecidual, antimicrobiano e desodorizante. Entretanto, quando apresentada em elevadas concentrações tem

¹Acadêmica da Graduação em Odontologia da Universidade Paranaense – UNIPAR – Umuarama – PR. Endereço: Rua Cambé, 4.160 – Apartamento 203, Umuarama - PR, CEP: 87.502-160. Tel.: (44) 9923 0915, e-mail: thais_cestari@hotmail.com

²Docente da Graduação em Odontologia da Universidade Paranaense – UNIPAR – Umuarama – PR.

efeito citotóxico (SIQUEIRA JR et al., 1999). Outro agente químico que pode ser usado em diversas especialidades na odontologia é a solução de clorexidina. Essa possui ação antimicrobiana imediata (ESTRELA et al., 2003), alta substância (PANTOJA et al., 2006), propriedade antimicrobiana de amplo espectro, é pouco irritante e apresenta baixa toxicidade aos tecidos (SASSONE et al., 2003), porém, não tem ação de solvente tecidual. O vinagre tem sido uma substância muito utilizada como agente anti-séptico em várias áreas da saúde; e em destaque o vinagre de maçã, na área odontológica, como agente irrigante de canais radiculares. O vinagre de maçã não apresenta a propriedade de solvente tecidual, mas apresenta algumas vantagens interessantes, como sua capacidade de atacar os radicais livres que interferem na resposta imunológica do organismo (COSTA et al., 2009).

Além da utilização de produtos industrializados, tais como os acima citados, tem-se verificado o avanço de estudos e o crescente uso da fitoterapia na área odontológica. Esses estudos são incentivados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) desde a década de 70, devido aos benefícios desses agentes medicinais, além do baixo custo e fácil manuseio (ALMEIDA; MENEZES, 2002). A associação de plantas medicinais à dentifrícios ou colutórios bucais tem sido proposta com a finalidade de reduzir a atividade de micro organismos comensais da cavidade bucal (MODESTO; LIMA; UZDA, 2001). Oliveira et al., (2007) realizaram um levantamento bibliográfico das espécies vegetais mais indicadas na odontologia. Encontraram 132 espécies distribuídas em 52 Famílias Botânicas citadas como úteis no tratamento de afecções odontológicas. As espécies mais citadas de acordo com a bibliografia consultada foram *Punica granatum*, *Athaea officinalis*, *Salvia officinalis*, *Calendula officinalis*, *Malva sylvestris* e *Plantago major*.

Dentre os fitoterápicos, a própolis se destaca devido às suas propriedades terapêuticas, como anti-inflamatória, antimicrobiana, anestésica, antitóxica, antioxidante, imunostimulatória, antitumoral e cicatrizante. Sua propriedade antimicrobiana tem sido associada, principalmente, à presença de flavonóides e ésteres presentes na sua composição (MOLINA et al., 2008). O óleo essencial de melaleuca possui uma alta complexidade química, o que faz com que a bactéria não consiga modificar seu sistema enzimático (GOMES et al., 2009). A malva (*Malva sylvestris*) apresenta propriedades diuréticas e expectorantes, podendo também ser utilizada no tratamento de inflamações das mucosas (ALVES, 2009).

Considerando o potencial bacteriano frente às infecções odontogênicas, há necessidade de desenvolver fármacos alternativos torna-se um desafio constante. Esse trabalho tem como objetivo verificar a atividade antimicrobiana de dez agentes químicos utilizados na cavidade bucal frente a cepas padronizadas de micro organismos provenientes da American Type Culture Collection (ATCC).

Material e Método

Agentes testados

As soluções testadas nesse experimento foram clorexidina 0,12% e 2%, hipoclorito de sódio 1%, vinagre de maçã, melaleuca pura, a 0,2%, 2,5% e 5%, Malvatricin® (Daudt – Rio de Janeiro – RJ) e Própolis a 7,5%, frente a

culturas puras. A atividade antimicrobiana das soluções foi testada em cepas pré-cultivadas de micro-organismos provenientes da ATCC, sendo eles: *Enterococcus faecalis*, *Cândida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O método utilizado foi o de disco-difusão em Ágar.

Preparo das cepas padrão ATCC utilizadas para testar os agentes

Placas contendo o meio TSA (Trypticase-Soy-Agar) enriquecido com sangue de carneiro desfibrinado foram inoculadas com as cepas ATCC. O inóculo foi preparado em solução salina, ajustando sua turbidez ao valor correspondente de 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^3$ UFC/mL). Em seguida, a semeadura foi realizada uniformemente por meio de swabs estéreis, que foram embebidos nas suspensões contendo as cepas microbianas e, esfregados por toda a superfície do meio. Discos de papel filtro estéreis, padronizados com 5 mm de diâmetro, foram saturados com as soluções testadas e depositados de maneira equidistante sobre a superfície do ágar previamente semeado com as cepas ATCC (Figura 1).



Figura 1: Disco com solução testada introduzido em placa de Agar sangue previamente contaminada.

Em sequência, as placas inoculadas, em duplicata, foram incubadas em microaerofilia e aerobiose, e armazenadas em estufa a 37° C por um período de 48 horas. Ao término do período de incubação foi analisada a presença ou ausência de halos de inibição do crescimento microbiano em torno dos discos de papel contendo as soluções antimicrobianas testadas.

Resultados

Pode-se observar que as soluções de clorexidina 0,12% e 2% apresentaram melhor ação antimicrobiana para *Cândida albicans* e *Enterococcus faecalis*, seguido do hipoclorito de sódio a 1%, o qual apresentou halos menores (Figura 2). Já o vinagre de maçã apresentou discreta ação antimicrobiana somente para *Cândida albicans*, não tendo ação sobre as cepas de *Enterococcus faecalis*. A melaleuca não foi eficaz contra nenhuma das cepas testadas. Já o produto Malvatricin apresentou boa ação antimicrobiana sobre as cepas de *Cândida albicans*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*, porém não teve efeito sobre as cepas de bactéria *E. coli*. A Própolis foi eficaz apenas contra *E. faecalis* (Tabela 1)



Figura 2: Halos de inibição de crescimento microbiano da solução de clorexidina 0,12% sobre cepas ATCC de *Cândida albicans*.

Tabela 1: Soluções testadas e os resultados obtidos frente às cepas ATCC.

Solução testada	Resultado
Clorexidina 0,12% e 2%	Melhor ação antimicrobiana para <i>Cândida albicans</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>
Hipoclorito de sódio 1%	Halos menores que a Clorexidina
Vinagre de maçã	Discreta ação antimicrobiana somente para <i>C. albicans</i>
Melaleuca	Não foi eficaz para nenhuma cepa testada
Malvatricin	Boa ação antimicrobiana para <i>C. albicans</i> , <i>E. faecalis</i> e <i>S. aureus</i>
Própolis	Eficaz contra <i>E. faecalis</i>

Discussão

O hipoclorito de sódio é o irrigante mais usado em endodontia, por ser um solvente de matéria orgânica, porém é irritante tecidual, não sendo raras complicações após seu uso clínico (PANTOJA et al., 2006). Tem capacidade de neutralizar o conteúdo séptico pulpar em casos de tratamento de dentes despolpados e/ou infectados, sem reação periapical; neutralizar produtos tóxicos com a função de possibilitar a penetração cirúrgica imediata aos canais radiculares em dentes com reação periapical crônica; também como coadjuvante do preparo biomecânico dos canais radiculares de dentes despolpados e infectados, em função de sua ação bactericida; durante a remoção de obturações parciais do canal radicular (SIQUEIRA JR, MORAES, LOPES, 1999); é desodorizante, clareador e lubrificante (SIQUEIRA JR et al., 1999, CARSON, GOODELL, McCLANAHAN, 2005). Em nosso estudo os resultados preliminares apontaram menor ação antimicrobiana do hipoclorito a 1% sobre as espécies de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e *Cândida albicans* (ATCC 10231) quando comparado com a clorexidina a 0,12 e 2%, porém alguns estudos como Valera et al., (2009) verificaram um aumento no seu efeito antimicrobiano quando associado ao preparo dos canais radiculares, aumentando o índice de

sucesso do tratamento endodôntico.

A clorexidina não é tão citotóxica aos tecidos quanto o hipoclorito de sódio e acredita-se que isso se deve ao fato dela não ser um solvente de tecido orgânico. A clorexidina também possui um importante efeito antimicrobiano residual prolongado, ou seja, possui uma alta substância residual (PANTOJA et al., 2006). Segundo Arias-Moliz et al. (2010) o uso associado de cetrimida e clorexidina apresentou resultados melhores do que as suas aplicações como agentes únicos contra biofilme de *Enterococcus faecalis*, e a aplicação alternada foi significativamente mais eficaz do que o modo de aplicação combinada. Em nosso estudo, a clorexidina obteve melhores resultados do que os outros agentes testados nesta pesquisa, frente a cepas de *Enterococcus faecalis*, *Cândida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, sem estar associada ou combinada com outro agente químico.

Baseado nas propriedades do vinagre (ácido acético), como sua ação antibacteriana, antifúngica e antiprototozóários, esse produto tem sido utilizado como agente desinfetante de artigos semicríticos e para anti-sepsia de feridas (UTYAMA, 2003), mas foram realizados poucos testes que comprovam a aplicação dessa solução na odontologia. Azuma et al. (2006) avaliaram a atividade antimicrobiana do ácido acético, nas concentrações de 3% e 6%, contra 21 cepas de *Cândida albicans* isoladas da cavidade bucal de pacientes da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos (UNESP) e contra uma amostra padrão de cepa ATCC, e verificaram que todas as soluções testadas foram efetivas. Em nosso estudo, o ácido acético demonstrou discreta ação sobre esse fungo, e ainda não apresentou efetividade sobre as cepas de *Enterococcus faecalis*.

Segundo Semenoff et al. (2008) a busca por novos produtos com efeitos antimicrobianos para o uso em Odontologia tem aumentado. Plantas medicinais e compostos naturais, tem sido testados, como o óleo essencial de melaleuca, que possui uma alta complexidade química, o que faz com que a bactéria não consiga modificar seu sistema enzimático (GOMES et al., 2009). Estudos demonstram que essa substância, associada ou não à Clorexidina, apresentou resultados antimicrobianos satisfatórios frente a culturas bacterianas (FILOCHE et al., 2005). Entretanto, em nossa pesquisa, os resultados obtidos com a melaleuca não foram satisfatórios frente as cepas de *Cândida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, demonstrando a necessidade da realização de novos testes que comprovem seu uso na Odontologia.

A própolis apresenta ação analgésica, antiinflamatória e antimicrobiana, apesar dos resultados positivos obtidos nesse estudo demonstrando a efetividade desse produto sobre as cepas de *E. faecalis*, existem poucos relatos de sensibilidade do *E. faecalis* frente a esta substância. Entretanto, estudos *in vitro* demonstram sua ação antimicrobiana frente a diversos micro-organismos patogênicos bucais (GOMES et al., 2009).

O produto Malvatricin®, composto químico que apresenta na sua composição Tintura Malva, Tirotricina (0,3 mg/ml) e Quinosol (10 mg/ml), nesse estudo mostrou efetividade importante para a maioria das cepas testadas, com exceção da *E coli*, a qual não notou-se efetividade. Assim esse produto deve ser melhor estudado com relação a biocompatibilidade dos tecidos, e aplicação como solução irrigadora

na odontologia.

Conclusão

Dentre os agentes testados a clorexidina 0,12% e 2% foi o agente que apresentou maior efetividade antimicrobiana para as cepas envolvidas nesta pesquisa. Em relação aos fitoterápicos testados, a Malvatricin® foi o agente que apresentou maior efetividade antimicrobiana para um maior número de espécies de micro-organismos avaliados, entretanto ainda deixa a desejar com relação a sua efetividade sobre as cepas de *E. coli*, o que sugere uma possível inatividade frente a bactérias Gram-negativas. Assim torna-se importante a execução de mais testes envolvendo diferentes cepas e novos produtos, visando maior segurança para os cirurgiões dentistas na escolha de produtos alternativos usados como agentes antimicrobianos.

Referências

ALMEIDA, E. C.; MENEZES, H. Anti-inflammatory activity of propolis extracts. **J. Venom Anim Toxins**, v. 8, n. 2, p. 5-8, 2002.

ALVES, P. M. et al. Atividade antimicrobiana, antiaderente e antifúngica in vitro de plantas medicinais brasileiras sobre microrganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Cândida*. **Rev. Socied. Bras. Med. Trop.** v. 42, n. 2, p. 222-224, 2009.

ARIAS-MOLIZ, M. T. et al. Eradication of enterococcus faecalis biofilms by cetrimide and chlorhexidine. **JOE**, v. 36, n. 1, 2010.

AZUMA, C. R. D. S. et al. Atividade antimicrobiana de soluções de ácido acético de diferentes tipos e procedências sobre *Candida albicans*. **Rev Pós Grad.** v. 13, n. 2, p. 164-167, 2006.

CAIRES, N. C. M. **Estudo in vitro das interações bacterianas de bactérias isoladas de infecções endodônticas e caracterização parcial de substâncias antagonistas produzidas por amostra de *C. butyricum***. 2005. 84 f. (Dissertação de Mestrado em Endodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

CARSON, K. R.; GOODEL, G. G.; McCLANAHAN, S. B. Comparison of the antimicrobial activity of six irrigants on primary endodontic pathogens. **J. Endod.** v. 31, p. 471-473, 2005.

COSTA, D. et al. O uso do vinagre como auxiliar químico em endodontia: uma revisão de literatura. **RSBO**, v. 6, n. 2, p. 185-193, 2009.

ESTRELA, C. et al. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Braz Dent J.** v. 14, n. 1, p. 58-62, 2003.

FILOCHE, S. K. et al. Antimicrobial effects of essential

oils in combination with chlorhexidine digluconate. **Oral Microbial Immunol**, v. 20, n. 4, p. 221-225, 2005.

GOMES, G. M. et al. Avaliação de produtos naturais e sintéticos no controle da aderência de *Enterococcus faecalis* em pinos estéticos. **Odont. Clín-Científ.** v. 8, n. 4, p. 331-337, 2009.

MICHELOTTO, A. L. C. et al. Clorexidina na terapia endodôntica. **RSBO**, v. 5, n. 1, p. 77-89, 2008.

MODESTO, A.; LIMA, K. C.; UZEDA, M. Atividade antimicrobiana de três dentifrícios utilizados na higiene oral de bebês: estudo *in vitro*. **Rev. APCD**, v. 55, n. 1, p. 43-48, 2001.

MOLINA, F. P. et al. Própolis, sálvia, calêndula e mamoma - atividade antifúngica de extratos naturais sobre cepas de *Cândida albicans*. **Cienc. Odontol. Bras.** v. 11, n. 2, p. 86-93, 2008.

OLIVEIRA, F. Q. et al. Espécies vegetais indicadas na odontologia. **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 17, n. 3, p. jul./set. 2007.

PANTOJA, L. M. M. et al. Clorexidina como substância química auxiliar em endodontia, **Informativo da associação paulista de cirurgiões dentistas de São Caetano do Sul**, n. 55, p. 8-13, 2006.

SASSONE, L. M. et al. Antimicrobial activity of different concentrations of NaOCL and chlorhexidine using a contact Test. **Braz Dent J**, v. 14, n. 2, p. 99-102, 2003.

SEMENOFF, T. A. D. V. et al. Efetividade in vitro de Aloe Vera in natura, gel de clorexidina a 0,12% e gel de clorexidina a 2% sobre *Enterococcus faecalis*. **Rev Odonto Ciênc.** v. 23, n. 3, p. 283-286, 2008.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. F.; MORAES, S. R.; LOPES, H. P. Atividade antimicrobiana de águas sanitárias disponíveis no mercado nacional. **Rev Bras. Odontol.** v. 56, n. 2, p. 57-60, 1999.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. F. et al. Efeito antibacteriano do hipoclorito de sódio a 1% e a 5,25% sobre bacilos anaeróbios produtores de pigmentos negros. **Revista Paulista de Odontologia**, v. 1, n. 1, p. 4-6, 1999.

UTYAMA, I. K. A. **Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica in vitro do vinagre e ácido acético: perspectiva na terapêutica de feridas** 2003. 448 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Enfermagem, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

VALERA, M. C. et al. 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. 555-559, 2009.