

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 24/03/2018.



UNESP - Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Odontologia de Araraquara



LARISSA TORRES DE ALMEIDA

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DE ANTIMICROBIANO E ÓLEO ESSENCIAL NA
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE
CIMENTOS ENDODÔNTICOS**

Araraquara

2016

UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



LARISSA TORRES DE ALMEIDA

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DE ANTIMICROBIANO E ÓLEO ESSENCIAL NA
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE
CIMENTOS ENDODÔNTICOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Endodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para título de Mestre em odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Luiz Camargo Villela Berbert

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Juliane M. G. Tanomaru

Araraquara

2016

Almeida, Larissa Torres de

Efeito da associação de antimicrobiano e óleo essencial na atividade antimicrobiana de cimentos endodônticos / Larissa Torres de Almeida.-- Araraquara: [s.n.], 2016.

54 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Fabio Luiz Villela Berbert

Co-Orientadora: Prof. Dr^a. Juliane M. G. Tanomaru

1. Biofilmes 2. Enterococcus faecalis 3. Materiais dentários

I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley C. Chiusoli Montagnoli, CRB-8/5646

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Araraquara / UNESP

LARISSA TORRES DE ALMEIDA

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DE ANTIMICROBIANO E ÓLEO ESSENCIAL NA
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE
CIMENTOS ENDODÔNTICOS**

Dissertação para obtenção do grau de Mestre.

Comissão julgadora

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Fábio Luiz Camargo Villela Berbert

2º examinador: Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho

3º examinador: Prof^ª. Dr^ª. Flaviana Bombarda de Andrade

Araraquara, 24 de março de 2016

DADOS CURRICULARES

LARISSA TORRES DE ALMEIDA

NASCIMENTO: 19 de dezembro de 1986 em Delmiro Gouveia, Alagoas, Brasil.

FILIAÇÃO: Sebastião Araújo de Almeida (*In memoriam*)

Rogéria Cristina Ramos Torres

2006 - 2010 Curso de Graduação em odontologia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

2010 - 2011 Curso de Aperfeiçoamento em Endodontia na Associação Brasileira de Odontologia- Seção Alagoas (ABO-AL)

2011 - 2013 Curso de Especialização em Endodontia na Associação Brasileira de Odontologia- Seção Alagoas (ABO-AL)

2014 - 2016 Curso de Mestrado em Odontologia-Endodontia, na Faculdade de Odontologia de Araraquara (FoAr)

DEDICATÓRIA

A Deus

...Por toda a graça concedida. Tudo vem de ti Senhor, e tudo que sou é obra tua. Este trabalho só foi possível por que tu permitiste, por que o seu Espírito Santo me guiou, me deu força, coragem e acima de tudo fé. A ti toda a minha gratidão, pelo dom da vida e por ter sido meu melhor amigo e conselheiro durante toda essa jornada.

A minha mãe, Maria

...Por sempre interceder por mim junto a teu filho Jesus.

A minha mãe, Rogéria

...Pelo amor incondicional e por nunca se negar a realizar um sonho meu.

As minhas irmãs, Krysna e Karoline

...Vocês são presentes de Deus na minha vida! Obrigada pelas palavras de apoio e incentivo, quando achava que a caminhada parecia impossível.

As minhas sobrinhas, Sofia e Lavínia

...Vocês me ensinaram o quão infinito pode ser o amor.

A minha avó, Auxiliadora

...Meu maior exemplo de amor e cuidado.

Ao meu noivo, Gilson

...Por todo amor, carinho e paciência.

AGRADECIMENTOS

Durante esta jornada tive a felicidade de ser orientada por dois grandes profissionais, que contribuíram de maneira significativa para o meu crescimento pessoal e profissional. À vocês: Prof. Dr. **Fábio L.C.V. Berbert** e prof. Dr. **Mário Tanomaru Filho**, obrigada pela paciência, carinho e incentivo.

À prof^ª. **Dr^a Juliane Maria Guerreiro Tanomaru**, por toda ajuda e paciência durante a realização da fase experimental.

À **Universidade Estadual Paulista “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**, UNESP, nas pessoas do Magnífico Reitor Prof. Dr. **Julio Cezar Durigan**, da Vice-Reitora Profa Dra **Marilza Vieira Cunha Rudge**, do Pró-Reitor de Pós-Graduação Prof. Dr. **Eduardo Kokubun**, e da Pró-Reitora de Pesquisa Prof.a Dr.a **Maria José Soares Mendes Giannini**.

À **Faculdade De Odontologia De Araraquara**, FOAr, nas pessoas da Diretora Prof.a Dr.a **Andréia Affonso Barreto Montandon** e da Vice-Diretora Prof.a Dr.a **Elaine Maria Sgavioli Massucato**.

Ao **Programa De Pós-Graduação Em Odontologia**, FOAr/UNESP, nas pessoas do Coordenador Prof. Dr. **Carlos Rossa Junior** e do Vice-Coordenador Prof. Dr. **Joni Augusto Cirelli**.

Aos Professores da Disciplina De Endodontia desta Faculdade, **Prof. Dr. Fábio Luiz Camargo Vilella Berbert**, **Prof.a Dr.a Gisele Faria**, **Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho**, **Prof.a Dr.a Juliane Maria Guerreiro Tanomraru**, **Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho**, **Prof. Dr. Milton Carlos Kuga** e **Prof. Dr. Renato De Toledo Leonardo**, pelo convívio harmonioso e ensinamentos transmitidos durante esses dois anos de pós-graduação.

Aos funcionários da Seção Técnica de Pós-Graduação, **José Alexandre Garcia** e **Cristiano Afonso Lamounier**.

Aos funcionários do Departamento De Odontologia Restauradora, na pessoa da Secretária **Creusa Maria Hortenci**.

Aos técnicos **Mário Sérgio Fantini** e **Vanderlei José Antônio da Silva**.

À **CAPES**, pela concessão de auxílio financeiro em forma de bolsa de estudo.

Aos amigos da Turma de Mestrado em Endodontia, **Aline Andrade, Derik Damasceno Barbosa, Fernanda Ferrari, Gabriela Castro Nuñez, Kennia Scapin Viola, Lauriê Garcia Belizário, Roberto Hoshino, Rodrigo Vasconcelos** e a todos os demais colegas da pós-graduação. Muito obrigada pela amizade, pelos bons momentos e companheirismo.

E a cada pessoa querida, que de alguma forma, contribuiu para a realização de mais um sonho! Muito obrigada a todos!

Almeida LT. Efeito da associação de antimicrobiano e óleo essencial na atividade antimicrobiana de cimentos endodônticos [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2016.

RESUMO

Cimentos endodônticos com ação antimicrobiana podem reduzir micro-organismos e prevenir re-infecção. Farnesol (FAR), óleo essencial derivado de frutas cítricas e dicloridrato de clorexidina (CHX), derivado guanidínico, apresentam ação antimicrobiana. **Capítulo 1:** Propriedades físico-químicas e ação antibiofilme contra *E. faecalis* do MTA Fillapex (MTAF) e sua associação a 1 % de FAR (MTAF/FAR) e 1% de CHX (MTAF/CHX) foram avaliados. Tempo de presa (TP), escoamento e solubilidade foram avaliados segundo a norma ISO 6876/2002. O pH foi avaliado por meio de um pHmetro digital. Atividade antibiofilme sobre *E. faecalis* foi analisada por meio do ensaio cristal violeta e teste do contato direto modificado (TCDM). No TCDM amostras dos cimentos foram colocadas por 15 h em contato com biofilme induzido em dentina bovina. O número de unidades formadoras de colônia (CFU mL⁻¹) no biofilme remanescente foi determinado. Os dados foram submetidos aos testes ANOVA e Tukey, com significância de 5%. Os resultados mostraram que a adição do FAR aumentou o TP do MTAF, e a CHX diminuiu ($p < 0,05$). O FAR e CHX aumentaram o escoamento do MTAF em diâmetro ($p < 0,05$). A solubilidade do MTAF foi aumentada, com valores acima de 3% estabelecidos pela ISO 6876/2002. O FAR e CHX não alteraram os valores de pH ($p > 0,05$). A adição de FAR e CHX ao MTAF promoveu aumento da capacidade de atuação no biofilme, sendo que a associação MTAF/CHX promoveu a maior redução na biomassa de biofilme ($p < 0,05$) e apresentou a menor quantidade de UFC/mL pelo TCDM. Concluiu-se que a adição de FAR e CHX ao MTAF aumentou a ação antibiofilme, sem alterar o pH. Entretanto, o FAR aumentou o TP e a CHX diminuiu, ambos aumentaram o escoamento e solubilidade. **Capítulo 2:** Propriedades físico-químicas e ação antibiofilme contra *E. faecalis* do AH Plus (AHP) e sua associação a 1 % de FAR (AHP/FAR) e 1% de CHX (AHP/CHX) foram avaliados. Tempo de presa, escoamento e solubilidade foram analisados segundo a norma ISO 6876/2002. O pH foi avaliado por meio de um pHmetro digital. A atividade antimicrobiana e antibiofilme foram avaliadas pelo teste do contato direto (TCD) e teste do contato direto modificado (TCDM), respectivamente. Os dados foram submetidos aos testes ANOVA e Tukey, com significância de 5%. A adição do FAR aumentou o TP do AHP ($p < 0,05$), e a CHX diminuiu. FAR aumentou o escoamento ($p < 0,05$). FAR e CHX aumentaram a solubilidade ($p < 0,05$), entretanto a perda de massa foi abaixo do limite de 3% estabelecido pela ISO 6876/2002. O FAR e CHX não alteraram os valores de pH ($p > 0,05$). No TCD uma redução na contagem bacteriana foi observada para associação AHP/FAR. Entretanto, a associação AHP/CHX promoveu total eliminação de *E. Faecalis* ($p < 0,05$). No TCDM a adição da CHX ao AHP promoveu aumento da atuação antibiofilme, com a menor quantidade de UFC/mL ($p < 0,05$). Concluiu-se que a adição do FAR e CHX ao AHP aumentou a atividade antimicrobiana, entretanto, apenas a CHX aumentou a atividade antibiofilme. A adição dessas substâncias não prejudicou as propriedades físico-químicas, que estão de acordo com as especificadas pela ISO 6876/2002.

Palavras-chave: Biofilme. *Enterococcus Faecalis*. Materiais dentários.

Almeida LT. Effect of antimicrobial and essential oil association in the antimicrobial activity of endodontic sealers [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2016.

ABSTRACT

Endodontic sealers with antimicrobial action can reduce microorganisms and prevent reinfection. Farnesol (FAR), essential oil derived from citrus fruits and dihydrochloride chlorhexidine (CHX), derived guanidínico, have antimicrobial action. **Chapter 1:** evaluated the physical-chemical properties and antibiofilm activity against *Enterococcus faecalis* of MTA Fillapex (MTAF) and its association with 1 % farnesol (MTAF/FAR) and 1% Chlorhexidine Dihydrochloride (MTAF/CHX). Setting Time (ST), flow and solubility were evaluated in accordance with the ISO 6876/2002 standard. pH was evaluated by means of a digital pHmeter. Antibiofilm activity against *E. faecalis* was analyzed by means of crystal violet assay; and modified direct contact test (MDCT). In the MDCT, the sealers samples were placed in contact, for 15 h, with biofilm induced on bovine dentin for 14 days for 15 h. The number of colony-forming units (CFU mL⁻¹) in the remaining biofilm was determined. The data were submitted to ANOVA and the Tukey tests, with 5% significance. The results showed the addition of FAR increased the ST of MTAF, and CHX diminished (p<0.05); FAR and CHX increased MTAF flow in diameter (p<0.05). Solubility of MTAF was increased with values over the 3% established by ISO 6876/2002. FAR and CHX did not change the pH values (p>0.05). Addition of FAR and CHX to MTAF promoted increase in capacity to act on biofilm, and the association MTAF/CHX promoted the greatest reduction in biofilm biomass (p<0.05). It was concluded that the addition of FAR and CHX to MTAF increased the antibiofilm action without changing the pH. However, it influenced the setting time, and increased the flow and solubility. **Chapter 2:** evaluated the physical-chemical properties and antibiofilm activity against *E. faecalis* of AH Plus (AHP) and its association with 1 % FAR (AHP/FAR) and 1% CHX (AHP/CHX). Setting Time (ST), flow and solubility were evaluated in accordance with the ISO 6876/2002 standard. pH was evaluated by means of a digital pHmeter. The antimicrobial and antibiofilm activity were evaluated by means of the direct contact test (DCT) and the modified direct contact test (DCTM), respectively. The data were submitted to ANOVA and the Tukey tests, with 5% significance. The addition of FAR increased the ST of AHP (p<0.05) and CHX decreased. The FAR increased AHP flow (p<0,05). FAR and CHX increased solubility (p<0,05). However the weight loss was below of 3% established by ISO 6876/2002. FAR and CHX did not change the pH values (p>0.05). In DCT a reduction in bacterial counts was observed for AHP/FAR association. However, the AHP/CHX association promoted total elimination of *E. faecalis* (p <0.05). In DCTM the addition of CHX to AHP promoted increased of antibiofilm activity with the lower CFU/ml (p <0.05). It was concluded that the addition of FAR and CHX to AHP increased the antimicrobial action, however, only CHX increased antibiofilm activity. The addition of these substances does not affect the physical and chemical properties, which are in accordance with those specified by ISO: 6876/2002.

Keywords: Biofilm. *Enterococcus faecalis*. Dental materials.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	PUBLICAÇÃO 1.....	16
3	PUBLICAÇÃO 2.....	32
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
	REFERÊNCIAS.....	48
	ANEXO A.....	53

1 INTRODUÇÃO

O controle dos micro-organismos presentes no sistema de canais radiculares e a prevenção da re-infecção endodôntica são objetivos essenciais para o sucesso do tratamento endodôntico (Nair et al.³¹, 2005). O uso de materiais obturadores com atividade antimicrobiana é considerado benéfico, pois favorece a atuação sobre micro-organismos remanescentes nos túbulos dentinários e sistema de canais radiculares (Arias-Moliz et al.³, 2015; Baer, Maki⁴, 2010; Bailón-Sánchez et al.⁵, 2014; Barros et al.⁶, 2014; Gjorgievska et al.¹⁶, 2013).

O *Enterococcus faecalis* é a espécie microbiana frequentemente associada aos casos de insucesso (Molander et al.²⁸, 1998; Rôças et al.³⁷, 2004) pois apresenta capacidade de formação de biofilme, resistência à privação nutricional (Stuart et al.⁴², 2006) e habilidade para invadir túbulos dentinários (Love²⁵, 2001). Por essa razão, o potencial antimicrobiano de diversas soluções irrigadoras, medicamentos intracanaís, biomateriais e cimentos endodônticos é avaliado sobre células planctônicas e biofilmes de *Enterococcus faecalis* (Chávez de Paz et al.¹⁰, 2010; Ercan et al.¹², 2006; Tanomaru-Filho et al.⁴⁴, 2007)

O MTA Fillapex surgiu numa tentativa de combinar as propriedades físico-químicas de um cimento endodôntico, com as propriedades biológicas do MTA (Scelza et al.³⁹, 2012). De acordo com o fabricante, apresenta em sua composição salicilato de resina, resinas diluídas, resina natural, resina nanoparticulada, trióxido de bismuto, sílica e MTA. Este cimento apresenta propriedades físico-químicas satisfatórias, tais como tempo de presa, escoamento, radiopacidade e pH alcalino (Silva et al.⁴⁰, 2013; Vitti et al.⁴⁶, 2013). Apresenta biocompatibilidade (Gomes-Filho et al.¹⁸, 2012), atividade antibacteriana e antibiofilme sobre *Enterococcus Faecalis*, quando avaliado por teste de difusão em ágar (ADT), teste do contato direto (DCT) (Morgental et al.²⁹, 2011) e teste do contato direto modificado (DCTM) (Faria-Júnior et al.¹⁴, 2013).

O AH Plus é um cimento a base de resina do tipo epóxi-amina, que se apresenta sob a forma de pasta/pasta. Dentre suas propriedades destaca-se boa capacidade de selamento (Joseph, Singh,²¹ 2012), satisfatória resistência à compressão, baixa solubilidade (Viapiana et al.⁴⁵, 2014) e capacidade de adesão (Sagsen et al.³⁸, 2011). Estudos anteriores mostram que o AH Plus apresenta atividade antimicrobiana pelo TCD sobre células planctônicas de *Enterococcus faecalis*, apenas anteriormente a presa do cimento (Barros et al.⁶ 2014; Nawal et al.³² 2011; Zhang et al.⁴⁷, 2009).

O farnesol trans-trans (tt-farnesol) é um álcool sesquiterpeno natural, comumente encontrado na própolis e em óleos essenciais de frutas cítricas (casca de laranja e óleo de capim-limão) (Alves et al.^{1,2}, 2013, 2013; Gomes et al.¹⁷, 2011; Jabra-Rizk et al.¹⁹, 2006). Também é produzido como uma molécula de *quorum-sensing* por culturas de *Candida Albicans* durante a formação do biofilme (Ramage et al.³⁵, 2002). O farnesol parece atuar como um agente quimiopreventivo e anti-tumoral (Joo, Jetten²⁰, 2010); é utilizado como desodorizante na indústria de cosméticos devido à sua elevada atividade antibacteriana (Kromidas et al.²⁴, 2006), além de ser desprovido de efeitos tóxicos e mutagênicos in vitro e in vivo (Burke et al.⁷, 1997; Koo et al.^{22,23}, 2003,2005; Machida et al.²⁶, 1999).

O farnesol apresenta efeitos antibiofilme, por inibição da formação dos biofilmes, alterando os biofilmes já formados, ou desenvolvendo ambos os mecanismos (Gomes et al.¹⁷,2011; Jabra-Rizk et al.¹⁹, 2006). Por ser uma molécula hidrofóbica, o principal mecanismo de ação é o acúmulo na membrana citoplasmática, alterando a permeabilidade celular e resultando no extravasamento do conteúdo citoplasmático. Em concentrações subinibitórias, o farnesol induz ligeira diminuição na quantidade de polissacarídeos e proteínas na matriz extracelular, concorrendo para a diminuição do biofilme ao longo do tempo (Gomes et al.¹⁷, 2011).

Seus efeitos antibiofilme foram observados em diversos micro-organismos como a *Candida albicans*, impedindo a passagem de levedura para o crescimento de hifas comprometendo a densidade e a morfologia do biofilme por este fungo (Ramage et al.³⁵, 2002). Sobre *Streptococcus mutans*, reduzindo a produção ácida e a síntese de glucanos por esta bactéria (Koo et al.²², 2003) e *Staphylococcus aureus* no qual inibiu significativamente a formação do biofilme (Jabra-Rizk et al.¹⁹, 2006).

Alves et al.¹ (2013) investigaram os efeitos in vitro de diferentes substâncias naturais e combinações, incluindo o farnesol, na biomassa de biofilme bacteriano produzido por *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus epidermidis*, para avaliar seu potencial como irrigante na endodontia. Verificaram que o farnesol foi efetivo na redução da biomassa de biofilme. Em estudo subsequente, Alves et al.² (2013), avaliaram os efeitos produzidos pelo farnesol, xilitol e suas combinações na biomassa de biofilme produzido por *Enterococcus faecalis*, na viabilidade bacteriana e desinfecção do canal radicular, comparando ao hipoclorito de sódio. Os resultados demonstraram que o farnesol e suas combinações apresentam potencial para

serem utilizados como irrigante, substituindo o hipoclorito de sódio em situações específicas na endodontia.

A Clorexidina é uma bisbiguanida catiônica, que apresenta ampla ação antimicrobiana (Ferraz et al.¹⁵, 2001) e substantividade (Souza et al.⁴¹, 2012). Quando reage com ácido, produz diferentes sais, como: digluconato, diacetato e dicloridrato, que são empregados como antimicrobianos (Calderini et al.⁸, 2013; Egbaria, Friedman¹¹, 1990; Matesanz et al.²⁷, 2013; Musial W, Mielck³⁰, 2009; Nambu³², 1984; Takahashi et al.⁴³, 2006). O Dicloridrato de clorexidina apresenta-se como um pó cristalino branco, inodoro e pouco solúvel em água (Calderini et al.⁸, 2013; Nambu T³², 1984). O mecanismo de ação do dicloridrato de clorexidina está relacionado à sua natureza catiônica. O composto interage com os fosfolipídios da membrana citoplasmática bacteriana, interrompendo seu equilíbrio e causando a liberação de moléculas essenciais (Castillo et al.⁹, 2006).

Além da elevada capacidade antimicrobiana, a baixa solubilidade apresentada pelo dicloridrato de clorexidina tem sido explorada como uma característica favorável em estudos laboratoriais e clínicos, na área médica e odontológica (Egbaria, Friedman¹¹, 1990; Matesanz et al.²⁷, 2013; Musial, Mielck³⁰, 2009; Nambu³², 1984; Paolantonio et al.³⁴, 2009). A baixa solubilidade do composto confere uma lenta liberação do agente ativo proporcionando uma ação antimicrobiana prolongada (Nambu³², 1984).

Egbaria e Friedman¹¹ (1990) investigaram o potencial do dicloridrato de clorexidina incorporado em microesferas de albumina humana, contra bactérias comumente associadas a infecções no trato urinário, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados demonstraram que as microesferas contendo dicloridrato de clorexidina apresentaram atividade antimicrobiana prolongada, que persistiu por até 16 dias. Os autores concluíram que cateteres urinários podem ser diretamente revestidos com essas microesferas, para obter uma atividade antimicrobiana duradoura.

Nambu³² (1984) avaliou o efeito antimicrobiano da adição de 1% de dicloridrato de clorexidina a um cimento endodôntico à base de óxido de zinco e eugenol. A atividade antimicrobiana foi avaliada sobre bactérias comumente encontradas em canais radiculares infectados (*Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*), utilizando o teste de difusão em ágar. Além disso, a toxicidade aguda, em subcutâneo de ratos e os efeitos clínicos do cimento modificado, também foram investigados durante 6 meses. Ao utilizar o cimento modificado, foram observadas elevadas

taxas de sucesso clínico e radiográfico para canais radiculares infectados 93.0% - 80.7%, respectivamente. O dicloridrato de clorexidina conferiu prolongada atividade antimicrobiana e baixa citotoxicidade ao cimento.

Paolantonio et al.³⁴ (2009), investigaram os efeitos de um Xanthan gel a base de clorexidina (0,5% de digluconato de clorexidina e 1,0% de dicloridrato de clorexidina, Xan-CHX), utilizado como coadjuvante à raspagem e alisamento radicular (RAR), no tratamento da periodontite crônica. Parâmetros clínicos e microbiológicos foram avaliados em 98 pacientes durante 6 meses. Os autores verificaram que o uso coadjuvante do Xan-CHX gel, melhorou significativamente os parâmetros clínicos profundidade de sondagem e nível clínico de inserção. Além de acentuada redução nos percentuais de sítios positivos para oito potenciais periodontopatógenos, particularmente 3 meses após o tratamento.

Nos últimos anos, agentes antimicrobianos têm sido adicionados aos cimentos endodônticos, com objetivo de aumentar o potencial antimicrobiano destes, obtendo-se resultados satisfatórios (Arias-Moliz et al.³, 2015; Baer, Maki⁴, 2010; Bailón-Sánchez et al.⁵, 2014; Barros et al.⁶, 2013; Gjorgievska et al.¹⁶, 2013). Gjorgievska et al.¹⁶ (2013), demonstraram que a adição de dois antissépticos do grupo das amônias quaternárias (cloreto de cetilpiridíneo e cloreto de benzalcônio) aumentou o efeito antimicrobiano contra *S. mutans*, *Lactobacillus casei*, e *Actinomyces viscosus*, de diversos cimentos endodônticos disponíveis comercialmente.

Bailon-Sanchez et al.⁵ (2014) avaliaram a atividade antimicrobiana e capacidade da inibição da formação do biofilme por *Enterococcus Faecalis*, utilizando o AH Plus sozinho e combinado a clorexidina, cetramida e combinação de ambas as substâncias. O teste do contato direto modificado (TCDM) e a análise do biofilme demonstraram que a adição da clorexidina, cetramida ou combinação de ambas ao AH Plus resultou em efeitos benéficos, com aumento da capacidade bactericida e antibiofilme deste cimento contra *Enterococcus Faecalis*.

Arias-Moliz et al.³ (2015), investigaram os efeitos da adição de diferentes concentrações de cloreto de benzalcônio (1%, 2% e 3%) ao AH Plus, na atividade antimicrobiana e propriedades físicas desse cimento. A atividade antimicrobiana e antibiofilme do cimento puro e modificado contra *E. faecalis* foi avaliada pelo teste do contato direto (TCD) e microscopia confocal. As propriedades físicas (tempo de presa, escoamento e solubilidade), foram avaliadas de acordo com as especificações da ANSI/ADA. A adição de 2% ou maiores concentrações de cloreto de benzalcônio ao AH Plus melhorou

significativamente a atividade antimicrobiana e antibiofilme, sem alterar as propriedades físicas estabelecidas pela ANSI/ADA.

Embora a melhora do potencial antimicrobiano seja desejável, a adição de substâncias antimicrobianas não deve interferir nas características físicas e/ou químicas do cimento endodôntico. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades físico-químicas tempo de presa, escoamento, solubilidade, pH e ação antibiofilme contra *Enterococcus faecalis* do MTA Fillapex e AH Plus associados a 1 % de farnesol e 1% de dicloridrato de clorexidina.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A incorporação de farnesol e dicloridrato de clorexidina ao MTA Fillapex e AH Plus aumentou a atividade antimicrobiana frente a biofilmes de *Enterococcus faecalis*. Contudo, a atuação do dicloridrato de clorexidina foi pronunciada em ambos os cimentos. A adição dos compostos antimicrobianos interferiu nas propriedades de tempo de presa, escoamento e solubilidade do MTAF e AHP. Entretanto, apenas a solubilidade do MTAF e associações não permaneceram de acordo com os requisitos exigidos pela ISO 6876/2002. A adição do FAR e CHX não alterou os valores de pH dos cimentos.

Tendo em vista que a adição de compostos antimicrobianos aos cimentos endodônticos é uma estratégia e os resultados são promissores, novas investigações devem ser realizadas para compreender o efeito destes compostos antimicrobianos sobre a capacidade de selamento, citotoxicidade e biocompatibilidade dos cimentos. Além disso, é desejável que as propriedades antimicrobianas dos cimentos modificados sobre biofilmes polimicrobianos complexos que simulam as condições clínicas do canal radicular sejam determinadas, anteriormente a esses cimentos serem considerados para aplicação clínica.

REFERÊNCIAS*

1. Alves FR, Neves MA, Silva MG, Rôças IN, Siqueira JF. Antibiofilm and antibacterial activities of farnesol and xylitol as potential endodontic irrigants. *Braz Dent J.* 2013; 24(3): 224-9.
2. Alves FR, Silva MG, Rôças IN, Siqueira JF. Biofilm biomass disruption by natural substances with potential for endodontic use. *Braz Oral Res.* 2013; 27(1): 20-5.
3. Arias-Moliz MT, Ruiz-Linares M, Cassar G, Ferrer-Luque CM, Baca P, Ordinola-Zapata R, et al. The effect of benzalkonium chloride additions to AH Plus sealer. Antimicrobial, physical and chemical properties. *J Dent.* 2015; 43(7): 846-54.
4. Baer J, Maki JS. In vitro evaluation of the antimicrobial effect of three endodontic sealers mixed with amoxicillin. *J Endod.* 2010; 36(7): 1170-3.
5. Bailón-Sánchez ME, Baca P, Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM. Antibacterial and anti-biofilm activity of AH plus with chlorhexidine and cetrimide. *J Endod.* 2014; 40(7): 977-81.
6. Barros J, Silva MG, Rodrigues MA, Alves FR, Lopes MA, Pina-Vaz I, et al. Antibacterial, physicochemical and mechanical properties of endodontic sealers containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles. *Int Endod J.* 2014; 47(8): 725-34.
7. Burke YD, Stark MJ, Roach SL, Sen SE, Crowell PL. Inhibition of pancreatic cancer growth by the dietary isoprenoids farnesol and geraniol. *Lipids.* 1997; 32(2): 151-6.
8. Calderini A, Pantaleo G, Rossi A, Gazzolo D, Polizzi E. Adjunctive effect of chlorhexidine antiseptics in mechanical periodontal treatment: first results of a preliminary case series. *Int J Dent Hyg.* 2013; 11(3): 180-5.
9. Castillo JA, Clapés P, Infante MR, Comas J, Manresa A. Comparative study of the antimicrobial activity of bis(Nalpha-caproyl-L-arginine)-1,3-propanediamine dihydrochloride and chlorhexidine dihydrochloride against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 57(4): 691-8.
10. Chávez de Paz LE, Bergenholtz G, Svensäter G. The effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria. *J Endod.* 2010; 36(1): 70-7.

*De acordo com o manual da FOAr/UNESP, adaptadas das normas Vancouver.

11. Egbaria K, Friedman M. Sustained in vitro activity of human albumin microspheres containing chlorhexidine dihydrochloride against bacteria from cultures of organisms that cause urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 1990; 34(11): 2118-21.
12. Ercan E, Dalli M, Dülgergil CT. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 102(2): e27-31.
13. Faria-Júnior NB, Tanomaru-Filho M, Berbert FL, Guerreiro-Tanomaru JM. Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. *Int Endod J.* 2013; 46(8): 755-62.
14. Ferraz CC, Gomes BP, 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; 27(7): 452-5.
15. Gjorgievska E, Apostolska S, Dimkov A, Nicholson JW, Kaftandzieva A. Incorporation of antimicrobial agents can be used to enhance the antibacterial effect of endodontic sealers. *Dent Mater.* 2013; 29(3): e29-34.
16. Gomes F, Teixeira P, Cerca N, Azeredo J, Oliveira R. Effect of farnesol on structure and composition of *Staphylococcus epidermidis* biofilm matrix. *Curr Microbiol.* 2011; 63(4): 354-9.
17. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Lodi CS, Cintra LT, Nery MJ, Filho JA, et al. Rat tissue reaction to MTA FILLAPEX®. *Dent Traumatol.* 2012; 28(6): 452-6.
18. Jabra-Rizk MA, Meiller TF, James CE, Shirtliff ME. Effect of farnesol on *Staphylococcus aureus* biofilm formation and antimicrobial susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50(4): 1463-9.
19. Joo JH, Jetten AM. Molecular mechanisms involved in farnesol-induced apoptosis. *Cancer Lett.* 2010; 287(2): 123-35.
20. Joseph R, Singh S. Evaluation of apical sealing ability of four different sealers using centrifuging dye penetration method: an in vitro study. *J Contemp Dent Pract.* 2012; 13(6): 830-3.
21. Koo H, Hayacibara MF, Schobel BD, Cury JA, Rosalen PL, Park YK, et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm accumulation and polysaccharide production by apigenin and tt-farnesol. *J Antimicrob Chemother.* 2003; 52(5): 782-9.

22. Koo H, Schobel B, Scott-Anne K, Watson G, Bowen WH, Cury JA, et al. Apigenin and tt-farnesol with fluoride effects on *S. mutans* biofilms and dental caries. *J Dent Res.* 2005; 84(11): 1016-20.
23. Kromidas L, Perrier E, Flanagan J, Rivero R, Bonnet I. Release of antimicrobial actives from microcapsules by the action of axillary bacteria. *Int J Cosmet Sci.* 2006; 28(2): 103-8.
24. Love RM. *Enterococcus faecalis*--a mechanism for its role in endodontic. *Int Endod J.* 2001; 34(5): 399-405.
25. Machida K, Tanaka T, Yano Y, Otani S, Taniguchi M. Farnesol-induced growth inhibition in *Saccharomyces cerevisiae* by a cell cycle mechanism. *Microbiology.* 1999; 145 (Pt 2): 293-9.
26. Matesanz P, Herrera D, Echeverría A, O'Connor A, González I, Sanz M. A randomized clinical trial on the clinical and microbiological efficacy of a xanthan gel with chlorhexidine for subgingival use. *Clin Oral Investig.* 2013; 17(1): 55-66.
27. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998; 31(1): 1-7.
28. Morgental RD, Vier-Pelisser FV, Oliveira SD, Antunes FC, Cogo DM, Kopper PM. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. *Int Endod J.* 2011; 44(12): 1128-33.
29. Musial W, Mielck JB. The application of modified flow-through cell apparatus for the assessment of chlorhexidine dihydrochloride release from lozenges containing sorbitol. *AAPS PharmSciTech.* 2009; 10(3): 1048-57.
30. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005; 99(2): 231-52.
31. Nambu T. Study on antibacterial root canal sealer containing chlorhexidine dihydrochloride. II. Investigation of antibacterial activity and follow-up study on clinical usage. *Dent Mater J.* 1984; 3(2): 288-311.
32. Nawal RR, Parande M, Sehgal R, Naik A, Rao NR. A comparative evaluation of antimicrobial efficacy and flow properties for Epiphany, Guttaflow and AH-Plus sealer. *Int Endod J.* 2011; 44(4):307-13.

33. Paolantonio M, D'Ercole S, Pilloni A, D'Archivio D, Lisanti L, Graziani F, et al. Clinical, microbiologic, and biochemical effects of subgingival administration of a Xanthan-based chlorhexidine gel in the treatment of periodontitis: a randomized multicenter trial. *J Periodontol.* 2009; 80(9): 1479-92.
34. Ramage G, Saville SP, Wickes BL, López-Ribot JL. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. *Appl Environ Microbiol.* 2002; 68(11): 5459-63.
35. Rezende GC, Massunari L, Queiroz IO, Gomes Filho JE, Jacinto RC, Lodi CS, Dezan E. Antimicrobial action of calcium hydroxide-based endodontic sealers after setting, against *E. faecalis* biofilm. *Braz Oral Res.* 2016;30(1):e38.
36. Rôças IN, Siqueira JF, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod.* 2004; 30(5): 315-20.
37. Sagsen B, Ustün Y, Demirbuga S, Pala K. Push-out bond strength of two new calcium silicate-based endodontic sealers to root canal dentine. *Int Endod J.* 2011; 44(12): 1088-91.
38. Scelza MZ, Linhares AB, da Silva LE, Granjeiro JM, Alves GG. A multiparametric assay to compare the cytotoxicity of endodontic sealers with primary human osteoblasts. *Int Endod J.* 2012; 45(1): 12-8.
39. Silva EJ, Rosa TP, Herrera DR, Jacinto RC, Gomes BP, Zaia AA. Evaluation of cytotoxicity and physicochemical properties of calcium silicate-based endodontic sealer MTA Fillapex. *J Endod.* 2013; 39(2): 274-7.
40. Souza M, Cecchin D, Farina AP, Leite CE, Cruz FF, Pereira CaC, et al. Evaluation of chlorhexidine substantivity on human dentin: a chemical analysis. *J Endod.* 2012; 38(9): 1249-52.
41. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* 2006; 32(2): 93-8.
42. Takahashi Y, Imazato S, Kaneshiro AV, Ebisu S, Frencken JE, Tay FR. Antibacterial effects and physical properties of glass-ionomer cements containing chlorhexidine for the ART approach. *Dent Mater.* 2006; 22(7): 647-52.
43. Tanomaru-Filho M, Tanomaru JM, Barros DB, Watanabe E, Ito IY. In vitro antimicrobial activity of endodontic sealers, MTA-based cements and Portland cement. *J Oral Sci.* 2007; 49(1): 41-5.

44. Viapiana R, Flumignan DL, Guerreiro-Tanomaru JM, Camilleri J, Tanomaru-Filho M. Physicochemical and mechanical properties of zirconium oxide and niobium oxide modified Portland cement-based experimental endodontic sealers. *Int Endod J*. 2014; 47(5): 437-48.
45. Vitti RP, Prati C, Silva EJ, Sinhoreti MA, Zanchi CH, de Souza e Silva MG, et al. Physical properties of MTA Fillapex sealer. *J Endod*. 2013; 39(7): 915-8.
46. Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2009; 35(7): 1051-5.

Não autorizo a reprodução deste trabalho até 24/03/2018

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 24 de março de 2016

LARISSA TORRES DE ALMEIDA