

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 30/03/2018.



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



RODRIGO ARRUDA VASCONCELOS

ESTUDO DO pH E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA SOBRE
Enterococcus faecalis **DE MEDICAÇÃO INTRACANAL À BASE DE**
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO ASSOCIADA AO ÓLEO DE MELALEUCA,
CLOREXIDINA OU FARNESOL

Araraquara

2016



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



RODRIGO ARRUDA VASCONCELOS

ESTUDO DO pH E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA SOBRE
Enterococcus faecalis **DE MEDICAÇÃO INTRACANAL À BASE DE**
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO ASSOCIADA AO ÓLEO DE MELALEUCA,
CLOREXIDINA OU FARNESOL

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

Araraquara

2016

Vasconcelos, Rodrigo Arruda

Estudo do pH e atividade antimicrobiana sobre *Enterococcus faecalis* de medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio associada ao óleo de melaleuca, clorexidina ou farnesol / Rodrigo Arruda Vasconcelos.-

- Araraquara: [s.n.], 2016.

65 f. ; 30 cm.

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

Orientadora: Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

1. Clorexidina 2. Endodontia 3. *Enterococcus faecalis*
4. Hidróxido de cálcio 5. Óleo de melaleuca 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

RODRIGO ARRUDA VASCONCELOS

ESTUDO DO pH E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA SOBRE
Enterococcus faecalis DE MEDICAÇÃO INTRACANAL À BASE DE
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO ASSOCIADA AO ÓLEO DE MELALEUCA,
CLOREXIDINA OU FARNESOL

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Comissão julgadora

Presidente e Orientador: Prof.^a Dr.^a Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

2º Examinador: Prof.^a Dr.^a Denise M. Spolidorio

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

Araraquara, 30 de março de 2016

DADOS CURRICULARES

RODRIGO ARRUDA VASCONCELOS

NASCIMENTO	03/04/1988 Salvador - Bahia
FILIAÇÃO	Luiz Antônio Figueiredo Vasconcelos Maria Lúcia Brito Arruda Vasconcelos
2008 - 2013	Graduação em Odontologia Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP
2014 – 2016	Especialização em Endodontia Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP
2014 – 2016	Mestrado em Odontologia – Área de Endodontia Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

Dedico este trabalho a **Deus**, por
conceder saúde, força de vontade e
proteção em todos os momentos.

Aos meus pais, **Luiz Antônio Figueiredo Vasconcelos** e **Maria Lúcia Brito Arruda Vasconcelos**, que sempre acreditaram em meu potencial e, ao meu lado, batalharam para tornar possível a realização dos meus sonhos. Nada seria possível sem o apoio de vocês. Fico muito feliz por sermos tão unidos. Amo vocês.

Ao meu irmão, **Luiz Antônio Brito Arruda Vasconcelos**, por sempre estar ao meu lado em todos os momentos. Por ser minha referência desde sempre. Você é a minha inspiração, não apenas profissional, sempre se esforçando para conquistar os seus objetivos, mas como ser humano. Tenha certeza que além de irmão, você é o meu melhor amigo.

À minha orientadora, **Prof.^a Dr.^a Juliane Maria Guerreiro Tanomaru**, por toda a dedicação, disponibilidade, atenção, paciência e conhecimento, tornando possível a realização deste trabalho.

Espero ter correspondido às suas expectativas.

Agradecimentos

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara da UNESP**, na figura da diretora, **Prof.^a Dr.^a Elaine Maria Sgavioli Massucato**, pela infraestrutura necessária para a execução deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Mario Tanomaru Filho**, pelo acolhimento inicial, paciência, convivência harmoniosa e todos os ensinamentos transmitidos durante este período que tive a oportunidade de trabalhar ao seu lado. Espero que possamos estabelecer parcerias futuras.

À banca de qualificação de Mestrado, **Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho, Prof.^a Dr.^a Gisele Faria e Prof.^a Dr.^a Juliane Maria Guerreiro Tanomaru**, pela análise criteriosa e importantes sugestões atribuídas a este trabalho.

Aos professores da Faculdade de Odontologia de Araraquara da UNESP, **Prof. Dr. Fábio Luiz Camargo Villela Berbert, Prof.^a Dr.^a Gisele Farias, Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho, Prof.^a Dr.^a Juliane Maria Guerreiro Tanomaru, Prof. Dr. Mario Tanomaru Filho, Prof. Dr. Milton Carlos Kuga, Prof. Dr. Renato de Toledo Leonardo**, este tempo foi muito importante para o meu crescimento profissional.

Aos colegas de mestrado da Faculdade de Odontologia de Araraquara da UNESP, **Aline Silva Andrade, Derik Damasceno Barbosa, Fernanda Ferrari Esteves Torres, Gabriela Mariana Castro Núñez, Kenia Scapin Viola, Larissa Torres de Almeida, Lauriê Garcia Belizário, Roberto Almela Roshino e Wilfredo Escalante Otarola**, por todo esse tempo de convivência.

Aos colegas de doutorado da Faculdade de Odontologia de Araraquara da UNESP, **Ana Carolina Venção, Ariele Patrícia Rabello, Bernardo Cesar Costa, Camila Almeida Nascimento, Camila Galletti Espir, Gisselle Moraima Chávez Andrade, Juliana Alcarás Saraiva, Natália Guimarães Kalatzis Sousa e Tiago Silva da Fonseca**, pela boa convivência.

À **CAPES**, pelo apoio financeiro na forma de concessão de bolsa de Mestrado.

À **Prof.^a Dr.^a Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes**, pela amizade, dedicação, conversas, conselhos, oportunidades. Por despertar o interesse e o amor a pesquisa e Endodontia. Por todo o incentivo desde a iniciação científica. Fico muito feliz por sempre acreditar no meu potencial e por ter mantido contato mesmo estando afastado por este período.

Ao amigo, **Marlos Barbosa Ribeiro**, por se fazer presente em todos os momentos. Obrigado por acreditar em meu potencial e sempre propor novos desafios e parcerias. Obrigado pelas oportunidades. Tenha certeza que os conselhos dados sempre foram levados em consideração. Fico muito feliz por você ser um grande ser humano e um excelente profissional. Agradeço também pela parceria nos trabalhos acadêmicos. Durante as reuniões sociais surgem as melhores ideias. As boas parcerias nunca podem acabar.

Aos professores da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da UNICAMP, **Prof.^a Dr.^a Adriana de Jesus Soares**, **Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia**, **Prof.^a Dr.^a Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes**, **Prof. Dr. Caio Cesar Randi Ferraz**, **Prof. Dr. José Flávio Affonso de Almeida**, por ter despertado o interesse pela Endodontia. Tenham a certeza de que cada um contribuiu para que eu pudesse me tornar um profissional de qualidade.

Aos amigos de Piracicaba, **Moisés Nogueira**, **Ivan Solani Martins**, **Ricardo Armini Caldas**, **Vinicius Nakamura**, **Priscila Amanda Francisco**, **Ana Carolina Correia Laurindo Cerqueira Neto**, **Maicon Passini** e **Augusto Rodrigues** por estarem presentes.

Aos meus amigos da Bahia, **George Fontes Leal**, **Michel Fontes Leal**, **Túlio Fontes Leal** e seus pais **Sidney** e **Jorge leal**, por todos esses anos de amizade, companheirismo, parceria e por sempre me acolherem em suas casas. Fico feliz em também fazer parte desta família. Obrigado por torcerem por mim. As melhores férias sempre são com vocês.

A amiga, **Aline Silva Andrade**, por todos os momentos juntos, pelo bom humor contagiante. Obrigado por sempre estar disposta a fazer companhia e tomar uma gela, mesmo quando os dias não eram tão bons assim. Não sei se por ser do mesmo estado que eu, mas eu senti uma energia muito boa em você. Foi muito especial te conhecer, Rob.

Ao amigo, **Derik Damasceno Barbosa**, que apesar de demonstrar um desespero natural em todas as tarefas a ele atribuída, as executa da melhor maneira possível. Obrigado pelos dentes doados para a pesquisa, pelas parcerias acadêmicas e sociais.

A amiga, **Fernanda Ferrari Esteves Torres**, por sempre estar ao meu lado. Você foi a primeira pessoa que conheci em Araraquara e, felizmente, nos demos tão bem. Os dias foram muito melhores em sua companhia. Tenho certeza que você é uma amiga que levarei para a vida inteira.

A amiga, **Gabriela Mariana Castro Núñez**, pela grande amizade, carinho, por ser uma pessoa tão sincera e sempre presente. Obrigado por sempre ter uma palavra para tornar o dia melhor. Obrigado pelos bons conselhos, dicas de *powerpoint* e bom gosto nos *slides*. ¡Hasta la vista!

A amiga, **Larissa Torres de Almeida**, pela amizade verdadeira, pelas análises críticas durante os seminários da pós-graduação, pelas reuniões na copa nos intervalos, pelas reuniões na casa das nordestinas do Mestrado sempre com alguma comida gostosa. Desejo toda a sorte do mundo nessa nova etapa da sua vida, *Future*.

“A tarefa não é tanto ver aquilo
que ninguém viu, mas pensar o
que ninguém ainda pensou sobre
aquilo que todo mundo vê. ”

- A. Schopenhauer

Arruda-Vasconcelos R. Estudo do pH e atividade antimicrobiana sobre *Enterococcus faecalis* de medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio associada ao óleo de melaleuca, clorexidina ou farnesol [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2016.

RESUMO

Medicações intracanal (MIC) são utilizadas para complementar a desinfecção do sistema de canais radiculares. A associação de antimicrobianos ao hidróxido de cálcio visa aumentar sua ação. As MIC (**Capítulo 1**) hidróxido de cálcio (HC)/óleo de melaleuca (OM) 4,5%/polietilenoglicol 400 (PL), HC/OM 9%/PL, HC/CLX 0,4%/PL e HC/PL (**Capítulo 2**) HC/farnesol (FAR) 4,5%/PL, HC/FAR 9%/PL e HC/PL foram analisadas. O teste de contato direto sobre células planctônicas (**Capítulos 1 e 2**) foi realizado utilizando suspensões das MIC. O teste de contato direto das MIC sobre biofilme (**Capítulo 2**) foi realizado em blocos de dentina bovina (5mm x 5mm x 0,7mm) com biofilme de *Enterococcus faecalis* induzidos por 15 dias e contato com as suspensões das MIC por 6 horas. A efetividade antibacteriana (**Capítulos 1 e 2**) foi avaliada em canais radiculares de dentes de humanos extraídos. Canais radiculares de dentes unirradiculares padronizados em 15mm foram preparados até MTwo #40/.04 e contaminados com *E. faecalis* por 21 dias. As MIC foram mantidas no canal durante 7 dias. A primeira coleta (C1) foi realizada após período de contaminação, a segunda coleta (C2), imediatamente após a remoção das MIC e terceira coleta (C3), realizada 7 dias após a remoção das MIC. Foi realizada contagem de UFCmL⁻¹. O pH foi avaliado após preenchimento de tubos de polietileno (**Capítulos 1 e 2**) com as pastas por 12 horas, 1, 3, 7, 14, 21 e 28 dias. A difusão de íons hidroxila por meio de dentina bovina (**Capítulos 1 e 2**) foi avaliada após preenchimento de canais radiculares de dentes bovinos nos períodos 1, 3, 7, 14, 21, 28 e 60 dias. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Resultados: (**Capítulo 1**) Todas as MIC foram efetivas contra *E. faecalis* na forma planctônica. As MIC contendo OM e CLX foram mais efetivas quando comparadas ao HC/PL em canais radiculares. A associação do OM e CLX 0,4% ao HC não prejudicou a capacidade de ionização da MIC. (**Capítulo 2**) A adição do FAR não alterou a capacidade de alcalinização do HC. Todas as MIC foram efetivas contra células planctônicas. As suspensões das MIC contendo FAR foram mais efetivas sobre biofilme de *E. faecalis* quando comparadas ao HC/PL. As MIC contendo farnesol promoveram maior efetividade contra *E. faecalis* no interior de canais radiculares. Conclusões: (**Capítulo 1**) A adição do OM 4,5 e 9%, bem como de CLX 0,4% aumentam a atividade antimicrobiana do HC sem alterar a liberação de íons hidroxila. (**Capítulo 2**) A adição de Farnesol 4,5 e 9% potencializou a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio sem interferir na liberação de íons hidroxila.

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

Arruda-Vasconcelos R. pH analysis and antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis* of intracanal medication based on calcium hydroxide associated with tea tree oil, chlorhexidine or farnesol [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2016.

ABSTRACT

Intracanal medications (ICM) are used to complement disinfection of the root canal system. The association of antimicrobials to calcium hydroxide aims to improve its action. The ICM (**Chapter 1**) calcium hydroxide (CH)/tea tree oil (TTO) 4.5%/polyethylene glycol 400 (PL), CH/TTO 9%/PL, CH/chlorhexidine (CHX) 0.4%/PL e CH/PL (**Chapter 2**) CH/farnesol (FAR) 4.5%/PL, CH/FAR 9%/PL and HC/PL were analysed. Direct contact test against *E. faecalis* planktonic cells (**Chapters 1 and 2**) was performed by using suspension of ICM. Direct contact test on biofilm (**Chapter 2**) was performed on bovine dentin blocks (5mm x 5mm x 0.7mm) with *E. faecalis* biofilms induced by 15 days and contact with the suspensions of ICM for 6 hours. Antibacterial effectiveness was evaluated in root canals of extracted human teeth (**Chapters 1 e 2**). Standardized single-rooted teeth with 15mm were prepared up to #40/.04 MTwo and contaminated with *E. faecalis* for 21 days. As ICM were kept within the root canals for 7 days. The first sample (S1) was performed after contamination, S2 immediately after the ICM removal and S3 7 days after the ICM removal. It was performed UFCmL⁻¹ count. pH was evaluated after filling the polyethylene tubes (**Chapter 1 and 2**) with the ICM for 12 hours, 1, 3, 7, 14, 21 and 28 days. The diffusion of hydroxyl ions through the bovine dentin (**Chapters 1 and 2**) was evaluated after filling root canals of bovine teeth after 1, 3, 7, 14, 21, 28 and 60 days. Data was statistically analyzed using ANOVA and Tukey's test ($p < 0,05$). Results: (**Chapter 1**) all ICM were effective against planktonic cells. ICM containing TTO and CHX were more effective compared to CH/PL. The association of TTO and CHX 0.4% to HC not affect the ionization capacity of ICM. (**Chapter 2**) The addition of FAR did not change the alkalizing ability of the CH. All ICM were effective against planktonic cells. The ICM containing FAR were more effective against *E. faecalis* than CH within root canals. Conclusions: (**Chapter 1**) The addition of TTO 4.5 and 9%, as well as CHX 0.4% increased the HC antimicrobial activity without modifying the release of hydroxyl ions. (**Chapter 2**) The addition of Farnesol 4.5 and 9% enhances the antimicrobial activity of calcium hydroxide without interfering with the release of hydroxyl ions.

Keywords: Calcium hydroxide. Chlorhexidine. Endodontics. *Enterococcus faecalis*. Tea tree oil

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 PROPOSIÇÃO.....	18
3 PUBLICAÇÃO 1.....	19
4 PUBLICAÇÃO 2.....	38
5 CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS.....	57
ANEXOS.....	62

1 INTRODUÇÃO

Canais radiculares infectados abrigam microbiota polimicrobiana de bactérias aeróbias, anaeróbias, Gram-positivas e Gram-negativas que apresentam organização na forma de biofilme (Ramachandran Nair³⁹, 1987; Nair et al.³³, 1990; Sundqvist, Figdor⁴⁹ 2003; Nair³⁵, 2006; Baumgartner et al.⁴, 2008; Ricucci, Siqueira⁴¹ 2010). Estes biofilmes são comunidades microbianas envoltas por uma matriz extracelular de polissacarídeo e proteínas na qual as células aderem-se umas às outras e/ou à superfícies ou interfaces (Costerton et al.⁹, 1995; Donlan, Costerton¹² 2002; Lee, Baek²⁶ 2012). Quando organizados em biofilmes, estes micro-organismos apresentam grande resistência a antissépticos e antibióticos (Socransky, Haffajee⁴⁷ 2002). Atualmente, o conceito em microbiologia enfatiza a doença endodôntica como uma infecção promovida por biofilme (Ricucci, Siqueira⁴¹ 2010). Deste modo, a eliminação eficaz do biofilme e a destruição das bactérias do sistema de canais radiculares são desafios importantes na desinfecção endodôntica (Wu et al.⁵⁷, 2014). Mesmo após preparo biomecânico e obturação é possível haver persistência de biofilme bacteriano no interior dos canais radiculares (Nair et al.³⁴, 2005; Siqueira et al.⁴⁶, 2010; Vera et al.⁵⁴, 2012) e esta persistência de micro-organismos após o tratamento é a principal causa de insucesso na terapia endodôntica (Siqueira⁴⁵, 2001).

Frequentemente isolada de canais radiculares em casos de insucesso no tratamento endodôntico, *Enterococcus faecalis* é uma bactéria anaeróbia facultativa Gram-positiva (Peciulienė et al.³⁸, 2000; Haapasalo et al.¹⁸, 2003; Rôças et al.⁴², 2004) presente em 24% a 74% dos casos de infecções endodônticas persistentes (Stuart et al.⁴⁸, 2006) e é capaz de organizar-se em forma de biofilme tornando-se mais resistente à fagocitose, anticorpos e antibióticos quando comparados a organismos não formadores de biofilme (Distel et al.¹¹, 2002). Este micro-organismo apresenta ainda diversos fatores de virulência tais como ácido lipoteicóico (LTA), peptidoglicano, citolisina e substâncias de agregação, capazes de induzir inflamação periapical (Lee, Baek²⁶ 2012). Estas bactérias são capazes de invadir e permanecer viáveis no interior de túbulos dentinários por um período de tempo prolongado (Love²⁸, 2001), aderir e formar biofilme em dentina sob diferentes condições ambientais (George et al.¹³, 2005), resistir a desinfetantes intracanal, e sobreviver em condições adversas em canais radiculares obturados (Rôças et al.⁴², 2004).

Medicamentos intracanal antimicrobianos são utilizados para complementar a desinfecção do sistema de canais radiculares (Byström et al.⁶, 1985; Tanomaru-Filho et al.⁵¹, 2002; Lana et al.²⁵, 2009). O hidróxido de cálcio é amplamente utilizado devido às suas propriedades biológicas e atividade antimicrobiana (Mohammadi, Dummer³² 2011), inibir a reabsorção dentária e induzir a formação de tecido duro (Mizuno, Banzai³⁰ 2008), estimular a proliferação de osteoblastos (Yang et al.⁵⁸, 2006) e capacidade de inativar endotoxinas bacterianas (Tanomaru et al.⁵⁰, 2003). O efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio é atribuído principalmente à liberação de seus íons hidroxila, que se difundem através de túbulos dentinários e superfície externa da raiz (Andreasen et al.³, 2006). Estes íons são radicais livres com alto poder de reatividade (Tanomaru-Filho et al.⁵², 2011) com capacidade de destruir componentes estruturais da membrana celular das bactérias e diminuir a atividade biológica celular, o que pode ser letal para micro-organismos (Zmener et al.⁵⁹, 2007).

Os óleos essenciais de plantas têm sido utilizados desde o início da civilização humana para fins terapêuticos e medicinais (Oyen, Dung³⁷ 1999). Estes óleos são materiais voláteis que protegem as plantas de doenças e do ataque de insetos (Valero⁵³, 2008) e, devido à natureza volátil dos seus componentes, são altamente aromáticos (Valero⁵³, 2008). Os óleos derivados de plantas, especialmente *Myrtaceae alternifolia*, tornou-se conhecido mundialmente no século XVIII, e apresenta propriedades anticâncer (Greay et al.¹⁷, 2010), anti-inflamatória (Hart et al.¹⁹, 2000) e antimicrobiana (Minami et al.²⁹, 2003; Wilkinson et al.⁵⁶, 2005; Catalán et al.⁸, 2008; Kwiecinski et al.²⁴, 2009).

As propriedades antimicrobianas de determinados óleos essenciais e/ou seus componentes em relação a patógenos humanos e animais foram estudados por diversos autores (Burt⁵, 2004; Carson et al.⁷, 2006). O óleo de melaleuca (OM) promove a lise e perda de integridade e função da membrana celular que se manifesta por extravasamento de íons e inibição da respiração (Carson et al.⁷, 2006). Este composto mostrou-se eficaz frente a 15 cepas de MRSA e 5 cepas de enterococos resistentes à vancomicina (Nelson et al.³⁶, 1997).

A clorexidina (CLX) tem sido utilizada como irrigante e MIC em endodontia. CLX apresenta efetividade perante bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, leveduras e fungos (Gomes et al.¹⁶, 2013). A CLX foi estudada como MIC isoladamente (Vianna et al.⁵⁵, 2007; Gomes et al.¹⁴, 2009) ou em associação a outras substâncias (Vianna

et al.⁵⁵, 2007; Gomes et al.¹⁴, 2009; Lima et al.²⁷, 2012), mostrando o efeito sinérgico da clorexidina quando associado ao hidróxido de cálcio (De Souza-Filho et al.¹⁰, 2008; Gomes et al.¹⁴, 2009; Lima et al.²⁷, 2012).

O farnesol, Trans-trans farnesol (tt-farnesol), é um álcool sesquiterpeno comumente encontrado na própolis e óleos essenciais de frutas cítricas como casca de laranja e óleo de capim-limão e apresenta efeitos antibiofilme por prevenção na formação de biofilme ou atuação em biofilmes estabelecidos (Alves et al.¹, 2013). Farnesol inibe ou reduz a formação de biofilme de diversas espécies microbianas, incluindo *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus* (Ramage et al.⁴⁰, 2002; Koo et al.²², 2005; Jabra-Rizk et al.²⁰, 2006). Esta substância inibe a produção de ácido e a síntese de glucano por *S. mutans* no biofilme (Koo et al.²², 2005). Os biofilmes formados na presença de farnesol contém menos biomassa e apresenta mudanças na composição da matriz (Gomes et al.¹⁵, 2011).

Na tentativa de encontrar um possível substituto para o hipoclorito de sódio devido a desvantagens como irritação aos tecidos periapicais (Serper et al.⁴⁴, 2004) e corrosão de instrumentos (Mohammadi³¹, 2008), Alves et al.¹ (2013) avaliaram os efeitos antibiofilme e antibacteriano do farnesol contra *Enterococcus faecalis* como solução irrigadora atuando isoladamente em concentração de 0,2% ou em associação com xilitol a 20%. Os autores demonstraram que o farnesol afetou tanto a biomassa do biofilme quanto a viabilidade das células no biofilme. A habilidade do tt-farnesol a 0,2%, xilitol a 5%; xilitol a 20%; tt-farnesol a 0,2% e xilitol a 5%; tt-farnesol a 0,2%, xilitol a 5% e lactoferrina 0,1%; xilitol a 5% e lactoferrina a 0,1%; e 20 mM de ácido salicílico (Katsuyama et al.²¹, 2005; Rosenberg et al.⁴³, 2008; Koo et al.²³, 2009; Ammons et al.², 2009) foi avaliada sobre biofilmes de *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecalis* MB35 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984. Os autores observaram que a combinação de farnesol, xilitol e lactoferrina reduziu significativamente a biomassa de biofilme produzido pelas duas cepas de *E. faecalis* e uma cepa de *S. epidermidis*. Desta maneira, o farnesol isoladamente ou em associação ao xilitol apresenta potencial para ser utilizado no combate de biofilmes no tratamento endodôntico (Alves et al.¹, 2013).

5 CONCLUSÃO

Diante das metodologias utilizadas, é possível concluir que:

- I. O óleo de melaleuca e clorexidina associados ao hidróxido de cálcio apresentam maior atividade antimicrobiana quando comparado ao hidróxido de cálcio contra *Enterococcus faecalis*.
- II. A adição do óleo de melaleuca e clorexidina ao hidróxido de cálcio nas concentrações estudadas não alterou a capacidade de liberação de íons hidroxila.
- III. A associação do farnesol ao hidróxido de cálcio apresenta maior atividade antimicrobiana quando comparado ao hidróxido de cálcio contra *Enterococcus faecalis*.
- IV. A adição do farnesol ao hidróxido de cálcio nas concentrações estudadas não alterou a capacidade de liberação de íons hidroxila.
- V. Estas medicações intracanal apresentam potencial para utilização clínica.

REFERÊNCIAS*

1. Alves FRF, Silva MG, Rôças IN, Siqueira Jr JF. Biofilm biomass disruption by natural substances with potential for endodontic use. *Braz Oral Res.* 2013; 27(1): 20-5.
2. Ammons MC, Ward LS, Fisher ST, Wolcott RD, James GA. *In vitro* susceptibility of established biofilms composed of a clinical wound isolate of *Pseudomonas aeruginosa* treated with lactoferrin and xylitol. *Int J Antimicrob Agents.* 2009; 33(3): 230-6.
3. Andreasen J, Jensen L, Christensen SSA. Relationship between calcium hydroxide pH levels in the root canals and periodontal healing after replantation of avulsed teeth. *Endod Topics.* 2006; 14(1): 93-101.
4. Baumgartner JC, Siqueira JF, Sedgley CM, Kishen A. Microbiology of endodontic disease. In: Ingle JI, Bakland LK, Baumgartner JC. *Ingle's endodontics* 6th ed. Hamilton: BC Decker; 2008: p 221–2.
5. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int J Food Microbiol.* 2004; 94(3): 223–53.
6. Byström A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol.* 1985; 1(5): 170–5.
7. Carson CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: A review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev.* 2006; 19(1): 50-62.
8. Catalán A, Pacheco JG, Martínez A, Mondaca MA. *In vitro* and *in vivo* activity of *Melaleuca alternifolia* mixed with tissue conditioner on *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 105(3): 327–32.
9. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Ann Rev Microbiol.* 1995; 49: 711-45.
10. De Souza-Filho FJ, Soares A de J, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CC, Gomes BP. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. *Braz Dent J.* 2008; 19(1): 28-33.
11. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod.* 2002; 28(10): 689-93.
12. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Ver.* 2002; 15(2): 167-93.
13. George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2005; 31(12): 867-72.

*De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/#biblioteca/manual>.

14. Gomes BP, Martinho FC, Vianna ME. Comparison of 2.5% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine gel on oral bacterial lipopolysaccharide reduction from primarily infected root canals. *J Endod*. 2009; 35(10): 1350-3.
15. 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.
16. Gomes BPFA, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JFA, Souza-Filho FJ, Ferraz CCR. Chlorhexidine in Endodontics. *Braz Dent J*. 2013; 24(2): 89-102.
17. Greay SJ, Ireland DJ, Kissick HTA, Levy MW, Beilharz TV, Riley CF, et al. Induction of necrosis and cell cycle arrest in murine cancer cell lines by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and terpinen-4-ol. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2010; 65(5): 877-88.
18. Haapasalo M, Udnaes T, Endal U. Persistent, recurrent and acquired infection of the root canal system post-treatment. *Endod Topics*. 2003; 6: 29-56.
19. Hart PH, Brand C, Carson CF, Riley TV, Prager RH, Finlay-Jones JJ. Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflamm Res*. 2000; 49(11): 619-26.
20. 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.
21. Katsuyama M, Ichikawa H, Ogawa S, Ikezawa Z. A novel method to control the balance of skin microflora. Part 1. Attack on biofilm of *Staphylococcus aureus* without antibiotics. *J Dermatol Sci*. 2005; 38(3): 197-205.
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. Koo H, Jeon JG. Naturally occurring molecules as alternative therapeutic agents against cariogenic biofilms. *Adv Dent Res*. 2009; 21(1): 63-8.
24. Kwiecinski J, Eick S, Wójcik K. Effects of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil on *Staphylococcus aureus* in biofilms and stationary growth phase. *Int J Antimicrob Agents*. 2009; 33(4): 343-7.
25. Lana PEP, Scelza MFZ, Silva LE, Mattos-Guaraldi AL, Hirata-Júnior R. Antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes on *Enterococcus faecalis* cultivated in root canal systems. *Braz Dent J*. 2009; 20(1): 32-6.
26. Lee SH, Baek DH. Antibacterial and neutralizing effect of human β -defensins on *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecalis* lipoteichoic acid. *J Endod*. 2012; 38(3): 351-6.

27. Lima RKP, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria-Júnior NB, Tanomaru-Filho M. Effectiveness of calcium hydroxide-based intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis*. Int Endod J. 2012; 45(4): 311–6.
28. Love RM. *Enterococcus faecalis*--a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J. 2001; 34(5): 399-405.
29. Minami M, Kita M, Nakaya T, Yamamoto T, Kuriyama H, Imanishi J. The inhibitory effect of essential oils on herpes simplex virus type-1 replication *in vitro*. Microbiol Immunol. 2003; 47(9): 681–4.
30. Mizuno M, Banzai Y. Calcium ion release from calcium hydroxide stimulated fibronectin gene expression in dental pulp cells and the differentiation of dental pulp cells to mineralized tissue forming cells by fibronectin. Int Endod J. 2008; 41(11): 933-8.
31. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. Int Dent J. 2008; 58(6): 329–41
32. Mohammadi Z, Dummer PMH. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. Int Endod J. 2011; 44(8): 697–730.
33. Nair PN, Sjögren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. J Endod. 1990; 16(12): 580-8.
34. Nair PNR, 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.
35. Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. Int Endod J. 2006; 39(4): 249-81.
36. Nelson R. In-vitro activities of five plant essential oils against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. J Antimicrob Chemother. 1997; 40(2): 305–6.
37. Oyen, LPA, Dung, NX. Plant resources of south-east Asia No. 19: essential-oil plants. Wageningen: Leiden: Backhuys Publishers; 1999: p277.
38. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. J Endod. 2000; 26(10): 593-5.
39. Ramachandran Nair PN. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. J Endod. 1987; 13(1): 29-39.

40. Ramage G, Saville SP, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. *Appl Environ Microbiol*. 2002; 68(11): 5459-63.
41. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod*. 2010; 36(8): 1277-88.
42. Rôças IN, Siqueira JF, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod*. 2004; 30(5):315-20.
43. Rosenberg LE, Carbone AL, Romling U, Uhrich KE, Chikindas ML. Salicylic acid-based poly (anhydride esters) for control of biofilm formation in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Lett Appl Microbiol*. 2008; 46(5): 593-9.
44. Serper A, Özbek M, Çalt S. Accidental sodium hypochlorite-induced skin injury during endodontic treatment. *J Endod*. 2004; 30(3): 180-1.
45. Siqueira JF. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J*. 2001; 34(1): 1-10.
46. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Ricucci D. Biofilm in endodontic infection. *Endod Topics*. 2010; 22(1): 33-49.
47. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000*. 2002; 28(1): 12-55.
48. 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.
49. Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen: ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endod Topics*. 2003; 6(1):3–28.
50. Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J*. 2003; 36(11): 733–9.
51. Tanomaru-Filho M, Leonardo MR, Silva LAB. Effect of irrigating solution and calcium hydroxide root canal dressing on the repair of apical and periapical tissues of teeth with periapical lesion. *J Endod*. 2002; 28(4): 295–9.
52. Tanomaru-Filho M, Saçaki JN, Faleiros FB, Guerreiro-Tanomaru JM. pH and calcium ion release evaluation of pure and calcium hydroxide-containing Epiphany for use in retrograde filling. *J Appl Oral Sci*. 2011; 19(1): 1-5.
53. Valero M. Plant oils and anti-pathogen immune stimulation. In: Watson RR, Preedy VR. *Botanical Medicine in Clinical Practice*. Cambridge: CAB International; 2008: p. 164–74.

54. Vera J, Siqueira Jr FJ, Ricucci D, Loghin S, Fernández N, Flores B, et al. One-versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod*. 2012; 38(8): 1040-52.
55. Vianna ME, Horz HP, Conrads G, Zaia AA, Souza FJ, Gomes BP. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immun*. 2007; 22(6): 411-8.
56. Wilkinson JM, Cavanagh HMA. Antibacterial activity of essential oils from Australian native plants. *Phytother Res*. 2005; 19(7): 643–6.
57. Wu D, Fan W, Kishen A, Gutmann JL, Fan B. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod*. 2014; 40(2): 285-90.
58. Yang WK, Kim MR, Lee Y, Son HH, Lee W. Effect of calcium hydroxide-treated *Prevotella nigrescens* on the gene expression of matrix metalloproteinase and its inhibitor in MG63 cells. *J Endod*. 2006; 32(12):1142–5.
59. Zmener O, Pameijer CH, Banegas G. An *in vitro* study of the pH of three calcium hydroxide dressing materials. *Dent Traumatol*. 2007; 23(1): 21-5.