

MANUELLA DA SILVA OLIVEIRA

**ANÁLISE DO TEMPO DE AÇÃO DE MEDICAÇÕES
INTRACANAIS SOBRE *CANDIDA ALBICANS*,
ENTEROCOCCUS FAECALIS, *ESCHERICHIA COLI* EM
CANAIAS RADICULARES**



2011

MANUELLA DA SILVA OLIVEIRA

**ANÁLISE DO TEMPO DE AÇÃO DE MEDICAÇÕES INTRACANAIS
SOBRE *CANDIDA ALBICANS*, *ENTEROCOCCUS FAECALIS*,
ESCHERICHIA COLI EM CANAIS RADICULARES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista, como parte das exigências para a obtenção do grau de CIRURGIÃO-DENTISTA.

Orientadora: Profa. Tit. Marcia Carneiro Valera

São José dos Campos

2011

AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 26 de agosto de 2011.

Manuella da Silva Oliveira

E-mail: manuella.oliveira@fosjc.unesp.br

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Tit. Marcia Carneiro Valera
Departamento de Odontologia o Restauradora

Prof. Adj. Carlos Henrique Ribeiro Camargo
Departamento de Odontologia o Restauradora

Profa. Dra. Luciane Dias Oliveira
Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal

São José dos Campos, 26 de agosto de 2011.

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais Everaldo e Dilza

Vocês me deram a vida, constituíram esta família maravilhosa que eu tenho o privilégio de pertencer, sempre me apoiaram em tudo, me ensinaram a ser responsável, dedicada, a ter caráter e ser íntegra. Me amaram incondicionalmente, me incentivaram a buscar meus objetivos, e se não fosse por vocês eu não chegaria até aqui. Serei eternamente grata pelo amor e confiança, obrigada por tudo. Amo muito vocês!

Às minhas queridas irmãs Thatiana e Anna Laura

Mais que irmãs, vocês sempre foram amigas e companheiras, sempre estiveram ao meu lado e são exemplos para mim. Amo muito vocês maninhas! Obrigada por tudo!

Às minhas avós, Ana (in memoriam) e Genó

Que são mulheres heroínas, sempre dedicadas a família, sempre me amaram com o mais puro amor e me ensinaram o valor da fé e humildade. Não importa onde e nem como, sempre estarão presentes e terão meu amor e gratidão!

Ao meu noivo Benjamín

Que sempre se mostrou paciente, amoroso e carinhoso, esteve ao meu lado em todos os momentos, me ajudando, me dando força e me incentivando, apesar da

distância, que fez o nosso amor ser mais forte a cada dia e capaz de superar qualquer desafio. Obrigada por estar presente nesta fase tão importante da minha vida, que não consigo nem imaginar como seria sem ter você comigo, por suportar a saudade que eu fiz você sentir por tanto tempo e por sempre me esperar. Obrigada por me entender, apoiar e respeitar as minhas decisões. Eu te amo eternamente!

À todos os meus familiares, tios, primos, sobrinhos, padrinho e madrinha, meus cunhados, meu sogro, por sempre se orgulharem de mim, me apoiarem, me amarem e fazerem a minha vida mais feliz! Amo muito vocês.

Às minha queridas amigas Amanda, Camila, Marília e Paola

Vocês, mais que amigas, se tornaram praticamente irmãs, pois literalmente estiveram ao meu lado todos os dias, nos momentos difíceis e felizes e fizeram essa jornada inesquecível. Amo cada uma de vocês, Vou sentir muita falta!!! Obrigada por tudo amizades!!!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao meu Pai Celestial por todas as bênçãos recebidas, por Seu infinito amor e por me guiar em todos os momentos da minha vida.

Agradeço à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" por me proporcionarem um ensino com excelência e qualidade. Obrigada à todos os funcionários e professores que me deram aula nestes 4 anos e contribuíram para a minha formação acadêmica.

Em especial, quero agradecer a minha orientadora Prof^a Márcia Carneiro Valera, por ter me dado a oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa e realizar este trabalho, por sempre se mostrar solícita e prestativa, por além de ser uma profissional exemplar, é uma pessoa dedicada, cuidadosa, paciente, atenciosa e sempre disposta a ajudar e a ensinar com muito amor. Admiro-te muito! Obrigada por tudo.

Agradeço imensamente a Adriana Chung e a Flávia Cardoso, por me ajudarem tanto na execução deste trabalho. Elas estiveram presentes em todos os momentos comigo, me ensinaram, me explicaram e sempre estavam dispostas a me ajudar. Agradeço também a Tereza Pedrosa e a Nadia Ferreira que também me ajudaram muito e sempre se mostraram muito atenciosas! Obrigada pela paciência, dedicação e carinho que todas sempre tiveram comigo! Vocês, além de tudo se tornaram minhas amigas!

À **FAPESP**, pelo auxílio financeiro prestado para a realização deste trabalho.

E a todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, colaboraram na execução deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!!!

"Aquilo que persistimos em fazer torna-se mais fácil, não porque a natureza da tarefa muda, mas porque a nossa capacidade de executá-la aumenta."

(Heber J. Grant)

Análise do tempo de ação de medicações intracais sobre *Candida albicans*, *Enterococcus Faecalis*, *Escherichia coli* em canais radiculares*

Time action of intracanal medications against *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* in root canals

RESUMO

A proposta deste estudo foi avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de medicações intracanaís sobre *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* presentes no interior dos canais radiculares. Para isto, foram utilizados 24 dentes humanos unirradiculados, contaminados por 28 dias e preparados utilizando solução salina fisiológica como solução irrigadora. Após, foram divididos em 2 grupos (de acordo com a medicação intracanal utilizada: 1) clorexidina gel 2%; 2) solução salina fisiológica apirogênica. Foram realizadas coletas do conteúdo do canal radicular imediatamente após a instrumentação, após 7 dias da ação da medicação intracanal e 7 dias após remoção da medicação. Para todas as coletas foram realizados a avaliação da atividade antimicrobiana. Todos os resultados foram submetidos à análise estatística de *Mann-Whitney* e teste de *Dunn* com significância de 5%. Verificou-se que houve redução significativa dos microrganismos após o preparo biomecânico do canal e a clorexidina foi efetiva eliminando completamente *C. albicans* e *E. coli*, e reduziu significativamente *E. faecalis*. Concluiu-se que a clorexidina é efetiva por 7 dias no interior dos canais radiculares.

UNITERMOS

Clorexidina; medicação intracanal; microrganismos.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate *in vitro* the antimicrobial activity of intracanal medications against *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* present in root canals. It was used 24 single root human teeth, contaminated for 28 days and prepared with physiological

*Artigo elaborado de acordo com as normas do Periódico **Brazilian Dental Science** (ISSN 2178- 6011).

saline solution as irrigation solution. The teeth were divided into 2 groups according to the intracanal medication used: 1) 2% gel chlorhexidine, 2) sterile and pyrogen free physiological saline solution. Samples were taken of the root canals immediately after instrumentation, 7 days after intracanal medication and 7 days after removal of intracanal medication. For all samples the antimicrobial activity was performed by plating method. All results were submitted to *Mann-Whitney* and *Dunn's* test with significance of 5%. There was significant reduction of microorganisms after instrumentation and the intracanal medication of 2% gel chlorhexidine completely eliminated *C. albicans* and *E. coli*, and significantly reduced *E. faecalis*. It was concluded that 2% gel chlorhexidine as intracanal medication for 7 days was effective on microorganisms.

UNITERMS

Chlorhexidine; intracanal medication; microorganisms.

INTRODUÇÃO

Para alcançar o sucesso no tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar é indispensável a limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares (SCR) combinados ao preparo biomecânico, que visam eliminar os microrganismos presentes causadores das lesões periapicais [1,2]. Para tal, é de extrema importância a utilização de soluções irrigadoras com ampla ação antimicrobiana [3], além da capacidade de dissolver tecidos, não ser tóxico e ser capaz de inativar endotoxinas. [4-7].

Entretanto, principalmente pela complexidade anatômica do SCR que dificulta o acesso dos instrumentos e substâncias químicas auxiliares, a desinfecção nem sempre é alcançada. Por este motivo a utilização da medicação intracanal é muito importante, pois esta agirá combatendo os microrganismos persistentes após o preparo biomecânico,

além de atuar modulando a reação inflamatória que ocorre após o preparo do canal radicular e também ocupando fisicamente o espaço do canal [8,2].

A clorexidina é uma substância catiônica que age através da adsorção nas membranas celulares dos microrganismos causando escoamento dos componentes intercelulares, possui amplo espectro de ação antimicrobiana, substantividade, biocompatibilidade e capacidade de adsorção à dentina. [9-11]. Seu uso na endodontia é proposto tanto na forma gel como líquida, como substância química auxiliar e como medicação intracanal, por sua atividade sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas [12,13]. Como agente de desinfecção dos túbulos dentinários, se mostrou o mais eficiente contra *E. faecalis*, em comparação com os demais comumente usados [14].

Estudos prévios realizados por nossa equipe [13,15-18] avaliaram a ação antimicrobiana e sobre endotoxinas de medicações intracanaís utilizadas durante 14 dias, tomando como referência o tempo de ação do hidróxido de cálcio, mostrando resultados satisfatórios. No entanto, é possível que para se obter uma excelente ação, a clorexidina deva agir por apenas 7 dias. Assim, é importante saber qual o tempo ideal que a medicação intracanal deverá permanecer dentro do canal radicular.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana da clorexidina gel 2% como medicação intracanal por 7 dias.

MATERIAL E MÉTODO

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, protocolo número 055/2011-PH/CEP (Anexo A).

Preparo dos espécimes

Foram utilizados 24 dentes humanos unirradiculados recém-extraídos na clínica de cirurgia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP. Após a exodontia foram limpos e imersos em solução fisiológica até o momento do uso. A seleção dos dentes foi feita baseada nas dimensões e similaridade morfológica da raiz. As coroas foram seccionadas com disco de carborundum, padronizando o comprimento dos espécimes em $16\pm 0,5$ mm.

A instrumentação inicial dos canais radiculares foi realizada em toda a sua extensão, desde seu diâmetro anatômico até a lima tipo Kerr nº 30 (Dentsply Ind. Com. Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil). Os canais foram irrigados com 3 mL de solução salina fisiológica a cada troca de instrumento. Após o preparo biomecânico, os canais foram preenchidos com EDTA (Inodon, Porto Alegre, RS, Brasil) por 3 minutos e irrigados com 10 mL de solução salina fisiológica. Em seguida, foi feito vedamento da região apical dos dentes com resina composta fotopolimerizável Z-100 (3M, Saint Paul, USA) e as raízes impermeabilizadas externamente com uma camada de adesivo epóxi (Brascola, São Paulo, SP, Brasil), exceto a região da abertura cervical.

Os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em placas de cultura celular de 24 poços (TPP, Switzerland), com 12 dentes em cada e fixados com resina acrílica quimicamente ativada (Dencor - Artigos Odontológicos Clássico, São Paulo, SP, Brasil). As placas foram tampadas e embaladas. Estas placas e todos os materiais utilizados foram esterilizados por radiação gama com cobalto 60 (20 KGy por 6 horas) para neutralizar endotoxinas pré-existentes (Csako et al., 1983). Esta esterilização foi realizada pela EMBRARAD (Empresa Brasileira de Radiação, Cotia, São Paulo).

Contaminação dos espécimes

Os microrganismos utilizados foram *Candida albicans* (ATCC 18804), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) que foram semeados em placas de Petri contendo ágar

Sabouraud Dextrose (Himedia Laboratories, Mumbai, Índia) para *C. albicans* e ágar infuso-cérebro-coração (BHI) (Himedia Laboratories, Mumbai, Índia) para *E. faecalis* e *E. coli*. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa microbiológica a $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas (*C. albicans* e *E. coli*) e 48 horas (*E. faecalis*). A partir do crescimento nas placas, foram preparadas suspensões em solução salina fisiológica estéril e apirogênica contendo 10^6 céls/ml com leitura em espectrofotômetro. Os canais radiculares foram contaminados com 10 mL da suspensão de *E. coli* e 10 mL de caldo BHI (infuso-cérebro-coração) (Himedia Laboratories, Mumbai, Índia). Na entrada dos canais foi colocada uma bolinha de algodão apirogênica embebida em caldo BHI e os espécimes foram mantidos em estufa a $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$, em umidade relativa, por 7 dias, sendo que a cada 2 dias, foi adicionado o caldo BHI no interior dos canais radiculares até o completo preenchimento (Valera et al., 2009). Após 7 dias, foram adicionados aos canais radiculares 5 mL da suspensão de *C. albicans*, 5 mL da suspensão de *E. faecalis* e 10 mL de caldo BHI. Na entrada dos canais foi colocada uma nova bolinha de algodão apirogênica embebida em caldo BHI, e os espécimes foram mantidos em estufa a $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$, em umidade relativa, por 21 dias, sendo que a cada 2 dias, foi adicionado o caldo BHI nos canais radiculares.

Após o período de contaminação (28 dias), foi realizada coleta de todas as amostras dos espécimes para confirmação da contaminação dos canais radiculares, descrita mais adiante.

Grupos experimentais

Após a confirmação da contaminação, todos os espécimes foram instrumentados até a lima tipo Kerr nº 50 utilizando-se 3 mL solução salina fisiológica estéril e apirogênica (Segmenta, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) a cada troca de instrumento, sendo a irrigação e aspiração realizada com auxílio de agulhas e seringas apirogênicas de 3 mL. Imediatamente após o preparo biomecânico foi realizada a 1ª coleta.

Em seguida, os canais foram preenchidos com EDTA 17% durante 3 minutos e irrigados com 10 mL de solução salina fisiológica estéril e apirogênica. Após, as raízes foram preenchidas com as respectivas medicações intracanaís:

- Clorexidina gel 2% (Byofórmula – Farmácia de Manipulação, São José dos Campos – Brasil)
- Soro fisiológico estéril (Controle - sem MIC)

A medicação de clorexidina gel foi levada ao canal radicular com o auxílio de seringas de 3 mL até o completo preenchimento do canal. O grupo controle foi preenchido com soro fisiológico estéril com auxílio de uma seringa de 1 mL (insulina) até completo preenchimento do canal radicular.

Coletas do conteúdo do canal radicular

Todas as coletas dos canais radiculares (coleta de confirmação, 1ª coleta: imediatamente após a instrumentação, 2ª coleta: imediatamente após 7 dias da ação da medicação intracanal e 3ª coleta: após sete dias da remoção da medicação) foram realizadas da mesma forma: os canais foram preenchidos com solução fisiológica apirogênica e foram coletados 100 µl do conteúdo do canal radicular com auxílio de seringas tipo insulina de 1 mL, os quais foram transferidos para tubos tipo *ependorf* contendo 900 µl de solução fisiológica apirogênica.

Para todas as amostras coletadas, foram realizados testes microbiológicos para verificar presença de microrganismos nos canais radiculares.

Avaliação da atividade antimicrobiana

Alíquotas de 100 µl de todas as amostras foram semeadas, em duplicata, em três diferentes meios de cultura, seletivo para cada microrganismo:

- Ágar Sabouraud Dextrose com cloranfenicol para *Candida albicans*;
- Ágar Enterococcosel para *Enterococcus faecalis*;

- Ágar McConkey para *Escherichia coli*.

As placas foram mantidas em estufa a 37°C por 48 horas, para determinação de UFC/mL. Em todas as coletas, a atividade antimicrobiana dos tratamentos e substâncias utilizadas foi avaliada pela contagem de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) de *C. albicans*, *E. faecalis* e *E. coli* remanescentes no canal radicular.

Análise dos Resultados

Os resultados foram submetidos à análise estatística pelo teste *Mann-Whitney* e pelo teste *de Dunn*, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Nas tabelas 1 e 2 estão expressos os valores de UFC/ml dos microrganismos avaliados nas diferentes coletas, para os grupos Clorexidina gel 2% e Solução salina fisiológica.

A análise descritiva dos percentuais de redução referente à diminuição de UFC/mL de *C. albicans*, *E. faecalis* e *E. coli* obtidos na 1ª coleta em relação à coleta de confirmação podem ser observados na Tabela 3, sendo que após o preparo biomecânico com solução salina fisiológica a quantidade de microrganismos foi reduzida em mais de 99%.

Percentuais de redução referente à diminuição de UFC/mL obtidos nas 2ª e 3ª coletas (após uso da MIC e 7 dias após a remoção da MIC) em relação à coleta de confirmação podem ser observados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente. Valores de “p” obtidos pela análise estatística de Mann-Whitney indicam que houve diferença na redução de *E. faecalis* entre os grupos em ambas as coletas (2ª e 3ª) e *C. albicans* na 3ª coleta (após 7 dias da remoção da MIC).

Quando comparados os percentuais de redução referente à diminuição de UFC/mL obtidos nas 2ª e 3ª coletas em relação à 1ª coleta (após PBM), houve diferença na redução de *E. faecalis* entre os

grupos em ambas as coletas (2ª e 3ª), *E. coli* após o uso da MIC (2ª coleta) e *C. albicans* após 7 dias da remoção da MIC (3ª coleta) (Tabelas 6 e 7).

Tabela 1 – Resultados obtidos: valores e médias de UFC/ml de *C.albicans*, *E. faecalis* e *E. coli* no grupo irrigado com solução salina fisiológica e MIC de CLX gel 2%

Dente	Confirmação	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta
<i>Candida albicans</i>				
1	150000	1	0	0
2	3100	43	0	0
3	11400	1	0	0
4	8000	0	0	0
5	1600	1	0	0
6	7100	1	0	0
7	1800	0	0	0
8	75000	0	0	0
9	25000	13	0	0
10	54000	0	2	1504
11	23600	0	0	0
12	37000	0	0	0
Média	33133	5	0.167	125
<i>Enterococcus faecalis</i>				
1	4800000	120	1	0
2	4500000	96	0	0
3	52000	102	0	0
4	2300000	32	0	0
5	980000	81	0	0
6	740000	88	0	0
7	2700	2	0	0
8	1300000	40	0	0
9	6100000	90	0	0
10	600000	23	263	444
11	630000	4	0	0
12	2300000	76	0	0
Média	2025392	62.8	22.0	37.0
<i>Escherichia coli</i>				
1	800	4	0	0
2	2500000	248	0	0
3	1935000	312	0	0
4	3600000	328	0	0
5	1800000	150	0	0
6	63000	40	0	0
7	100	4	0	0
8	39800	25	0	0
9	16000	102	0	0
10	23000	80	0	0
11	3800	0	0	0
12	45200	8	0	0
Média	835558	108.4	0	0

Tabela 2 – Resultados obtidos: valores e médias de UFC/ml de *C. albicans*, *E. faecalis* e *E. coli* no grupo controle (irrigação com solução salina fisiológica e sem MIC)

Dente	Confirmação	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta
<i>Candida albicans</i>				
1	260000	0	17	580
2	20000	0	0	4
3	6100	0	0	776
4	800	1	0	688
5	20000	1	0	78
6	13700	0	0	176
7	1600	0	0	240
8	34000	0	0	0
9	900	0	0	42
10	6500	3	35	512
11	600	0	0	0
12	10800	0	0	0
Média	31250	0.417	4.33	258
<i>Enterococcus faecalis</i>				
1	4900000	206	192	1070
2	79000	48	105	27
3	2900000	764	520	1164
4	2300000	268	500	560
5	520000	122	198	90
6	140000	27	948	176
7	74000	11	492	224
8	32400	55	22	8
9	420000	144	212	111
10	3000000	450	596	560
11	2500000	292	154	840
12	2800000	62	166	496
Média	1638783	204.1	342	444
<i>Escherichia coli</i>				
1	150000	40	30	68
2	99200	0	722	0
3	30000	150	364	532
4	6200000	256	1716	314
5	1500000	82	378	0
6	32000	4	84	24
7	71200	11	30	0
8	93000	30	15	0
9	90000	44	108	0
10	2500000	371	1702	2172
11	1300000	322	476	400
12	420000	21	780	404
Média	1040450	110.9	534	326

Tabela 3 - Percentuais de redução referente à diminuição de UFC/mL de *C. albicans*, *E. faecalis* e *E. coli* obtidos na 1ª coleta em relação à coleta de confirmação

Confirmação X 1ª Col									
<i>C. albicans</i>				<i>E. faecalis</i>			<i>E. coli</i>		
n	Média	DP*	Mediana	Média	DP*	Mediana	Média	DP*	Mediana
24	99.93	0.28	100	99.97	0.05	99.99	99.73	0.82	99.99

*Desvio-padrão

Tabela 4 - Percentuais de redução referente à diminuição de UFC/mL de *C. albicans*, *E. faecalis* e *E. coli* obtidos na 2ª coleta em relação à coleta de confirmação e valores de “p”

GRUPOS	Confirmação X 2ª Col												
	<i>C. albicans</i>				<i>E. faecalis</i>				<i>E. coli</i>				
	n	Média	DP*	Mediana	p	Média	DP*	Mediana	p	Média	DP*	Mediana	p
C	12	100	0.00107	100	0.707	99.996	0.0127	100	0.0002**	100	0.00	100	1.00
S	12	99.955	0.155	100		99.858	0.250	99.970		99.771	0.369	99.945	

*Desvio padrão; **diferença estatística significativa (p<0,05)

C – Clorexidina gel 2%; S – Solução Salina Fisiológica estéril

Tabela 5 - Percentuais de redução referente à diminuição de UFC/mL de *C. albicans*, *E. faecalis* e *E. coli* obtidos na 3ª coleta em relação à coleta de confirmação e valores de “p”

GRUPOS	Confirmação X 3ª Col												
	<i>C. albicans</i>				<i>E. faecalis</i>				<i>E. coli</i>				
	n	Média	DP*	Mediana	p	Média	DP*	Mediana	p	Média	DP*	Mediana	p
C	12	99.768	0.804	100	0.0056**	99.994	0.0214	100	0.0004**	100	0.00	100	1.00
S	12	89.32	24.31	99.16		99.943	0.0827	99.974		99.824	0.504	99.982	

*Desvio padrão; **diferença estatística significativa (p<0,05)

C – Clorexidina gel 2%; S – Solução Salina Fisiológica estéril

Tabela 6 - Percentuais de redução referente à diminuição de UFC/mL de *C. albicans*, *E. faecalis* e *E. coli* obtidos na 2ª coleta em relação a 1ª coleta e valores de “p”

GRUPOS	1ª Col X 2ª Col												
	<i>C. albicans</i>				<i>E. faecalis</i>				<i>E. coli</i>				
	n	Média	DP*	Mediana	p	Média	DP*	Mediana	p	Média	DP*	Mediana	p
C	12	100	0.00	100	1.00	4.6	330.1	100.0	0.0004**	100	0.00	100	0.0001**
S	12	-289	674	100		-679	1516	-55		-667	1133	-173	

*Desvio padrão; **diferença estatística significativa (p<0,05)

C – Clorexidina gel 2%; S – Solução Salina Fisiológica estéril

Tabela 7 - Percentuais de redução referente à diminuição de UFC/mL de *C. albicans*, *E. faecalis* e *E. coli* obtidos na 3ª coleta em relação a 1ª coleta e valores de “p”

G R U P O S	1ª Col X 3ª Col												
	<i>C. albicans</i>				<i>E. faecalis</i>				<i>E. coli</i>				
	n	Média	DP*	Mediana	p	Média	DP*	Mediana	p	Média	DP*	Mediana	p
C	12	100	0.00	100	0.0238**	-61	557	100	0.0005**	100	0.00	100	0.182
S	12	-3112	32871	-16967		-317	570	-81		-253	567	-24	

*Desvio padrão; **diferença estatística significativa ($p < 0,05$)

C – Clorexidina gel 2%; S – Solução Salina Fisiológica estéril

DISCUSSÃO

A análise microbiológica realizada imediatamente após o PBM, mostrou que os microrganismos presentes nos canais infectados foram praticamente eliminados, concordando com os estudos de Lee et al. [2], mostrando que esta redução refere-se a ação mecânica dos instrumentos, pois mesmo com a utilização de solução salina fisiológica como solução irrigadora, foram eliminados 99,97% de *Enterococcus faecalis*, 99,93% de *Candida albicans* e 99,73% de *Escherichia coli*. Portanto, o processo de limpeza e desinfecção dos canais radiculares, simultaneamente ao preparo biomecânico são etapas essenciais para o sucesso do tratamento endodôntico [3].

Após a utilização de medicação intracanal (MIC) de clorexidina gel 2% (CLX) verificou-se a eliminação de *Escherichia coli* e *Candida albicans* e grande redução na quantidade de *Enterococcus faecalis* (99,99%). A não eliminação de *E. faecalis* pode ser devido a ser um microrganismo resistente, que possui habilidade de invadir túbulos dentinários em profundidade e seus receptores se aderem ao colágeno [19]. Assim, é de difícil eliminação após preparo biomecânico. Nossos resultados estão em concordância com os trabalhos de Menezes et al. [10], Vahdaty et al. [9], e Sena et al. [11], que mostram a efetividade da clorexidina na eliminação de microrganismos devido à seu amplo espectro de ação antimicrobiana, substantividade e relativa ausência de

citotoxicidade. É importante ressaltar que ocorreu eliminação de *E. coli* e *C. albicans* após a utilização de MIC de CLX por 7 dias, discordando dos trabalhos de Gomes et al. [12], que preconiza a permanência da MIC de CLX por 14 dias. Além disso, o efeito residual já conhecido da CLX [20,21] também foi efetivo, pois na análise microbiológica feita após 7 dias dos canais sem MIC ainda houve eliminação de *Escherichia coli* e redução significativa de *Enterococcus faecalis* (99,99%) e *Candida albicans* (99,76%).

Considerando a eficiência do tratamento endodôntico, tanto o preparo biomecânico quanto a MIC mostraram resultados satisfatórios referente à diminuição de UFC/mL, evidenciando a necessidade da MIC, apesar de haverem estudos que dizem que a MIC teria pouco efeito na microbiota do SCR e assim ter limitada interferência no sucesso do tratamento endodôntico. Estudos clínicos mostram sucesso deste tratamento em casos onde não foram utilizadas MIC [22]. Entretanto, estudos microbiológicos [23-25] mostram microrganismos presentes e persistentes nos canais radiculares, e estudos histológicos também apontam para persistência de processos inflamatórios a longo prazo associado a presença de microrganismos, mantendo o insucesso endodôntico [26]. Sendo assim, a utilização da MIC ainda deve ser a opção mais segura para o sucesso do tratamento endodôntico.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que:

- A clorexidina gel 2% utilizada como medicação intracanal por apenas 7 dias, apresenta efetiva atividade antimicrobiana sobre *Candida albicans*, *Enterococcus Faecalis* e *Escherichia coli*.

REFERÊNCIAS


1. Marchesan MA, Aruda MP, Silva Sousa YTC, Saquy PC, Pecora JD, Sousa Neto MD. Análise morfológica da capacidade de limpeza promovida pela instrumentação rotatório, associada à solução irrigantes, com limas níquel-titânio em canais radiculares com achatamento mesio-distal. *J Appl Oral Sci.* 2003;11(1):55-9.
2. Lee Y, Han SH, Hong SH, Lee JK, Ji H, Kum KY. Antimicrobial efficacy of a polymeric Chlorhexidine release device using in vitro model of enterococcus faecalis dentinal tubule infection. *J Endod.* 2008; 34(7):855-8.
3. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil J. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endod Top.* 2005; 10: 71-102.
4. Onawunmi GO, Ogunlana EO. A study of the antibacterial activity of the essential oil of lemon grass (*Cymbopogon citrates*). *Int J Crude Drug Res.* 1986;24:64-8.
5. Silva LAB, Nelson Filho P, Leonardo MR, Rossi MA, Pansani CA. Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin in vivo. *J Endod.* 2002;28(2):94-8.
6. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006;32(5):389-98.
7. Oliveira LD, Leão MV, Carvalho CAT, Camargo CHR, Valera MC, Jorge AO, et al. *In vitro* effects of calcium hydroxide and polymix B on endotoxins in root canals. *J Dent.* 2005;33(2):107-14.
8. Jung IY, Seo MA, Fouad AF, Spangberg LSW, Lee SJ, Kim HJ, et al. Apical anatomy in mesial and mesio buccal roots of permanent first molars. *J Endod.* 2005;31(5):364.
9. Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endod Dent Traumatol.* 1993;9(6):243-8.
10. Menezes MM, Valera MC, Koga-Ito CY, Camargo CHR, Mancini MNG. In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal

medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J.* 2004;37(5):311-9.

11. Sena NT, Gomes BPF, Vianna ME, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, et al. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. *Int Endod J.* 2006;39(11):878-85.
12. Gomes BPF, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.* 2003;36(4):267-75.
13. Valera MC, Silva KC, Maekawa LE, Carvalho CAT, Koga-Ito CY, Camargo CH, 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.* 2009; 17(6):555-9.
14. Kandaswamy D, Venkateshbabu N, Gogulnath D, Kindo AJ. Dentinal tubule disinfection with 2% chlorhexidine gel, propolis, morinda citrifolia juice, 2% povidone iodine, and calcium hydroxide. *Int Endod J.* 2010 May;43(5):419-23.
15. Oliveira LD, Carvalho CAT, Valera MC, Koga-Ito CY, Jorge AOC. Diffusion ability of endotoxin through dentinal tubules. *Braz Oral Res.* 2005;19(1):5-10.
16. Oliveira LD, Jorge AOC, Carvalho CAT, Koga-Ito CY, Valera MC. In vitro effects of endodontic irrigants on endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007 Jul;104(1):135-42.
17. Valera MC, Salvia AC, Maekawa LE, Camargo SE, Carvalho CA, Camargo CH, et al. Antimicrobial analysis of chlorhexidine gel and intracanal medicaments against microorganisms inoculated in root canals. *Minerva Stomatol.* 2010 Jul-Aug;59(7-8):415-21.
18. Maekawa LE, Valera MC, Oliveira LD, Carvalho CAT, Camargo CHR, Koga-Ito CY, et al. Avaliação dos extratos de própolis e de gengibre como medicação intracanal sobre endotoxinas em canais radiculares [resumo

- PNa 048]. 27 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica 2010; Água de Lindóia - SP - Brasil. Braz Oral Res; 2010.
19. Baik JE, Kum KY, Yun CH, Lee JK, Lee K, Kim KK, et al. Calcium hydroxide inactivates lipoteichoic acid from *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2008;34(11):1355-9.
 20. Basrani B, Ghanem A, Tjäderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. J Endod. 2004;30(6):413-7.
 21. White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. J Endod. 1997;23(4):229-31.
 22. Xiao D, Zhang DH. A clinical study of one-visit endodontic treatment for infected root canals. Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2010 Feb;28(1):57-60.
 23. Sakamoto M, Siqueira JF Jr, Rocas IN, Benno Y. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. Oral Microbiol Immunol. 2007 Feb;22(1):19-23.
 24. Schirrmeister JF, Liebenow AL, Braun G, Wittmer A, Hellwig E, Al-Ahmad A. Detection and eradication of microorganisms in root-filled teeth associated with periradicular lesions: an in vivo study. J Endod. 2007 May;33(5):536-40.
 25. Blome B, Braun A, Sobarzo V, Jepsen S. Molecular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using real-time polymerase chain reaction. Oral Microbiol Immunol. 2008 Oct;23(5):384-90.
 26. Leonardo MR, Hernandez ME, Silva LA, Tanomaru-Filho M. Effect of a calcium hydroxide-based root canal dressing on periapical repair in dogs: a histological study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Nov;102(5):680-5.

ANEXO A – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa


unesp  **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Rua Eng. Francisco José Longo, 771 - Jd. São Otávio
CEP 12211-470 - F. (12) 3947-9018
Fax. (12) 3947-9010 / janete@fod.usp.br

CERTIFICADO
Comitê de Ética em Pesquisa
Com Seres Humanos

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº 055/2011-PH/CEP, referente ao Projeto intitulado "Análise do pH e da ação de medicações intracanaais sobre *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e sua endotoxina em canais radiculares", sob a responsabilidade de **MARCIA CARNEIRO VALERA**, tendo como orientada **MANUELLA DA SILVA OLIVEIRA**, está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa, com seres humanos, conforme, Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 09 de agosto de 2011.


Profa. Adjunto **JANETE DIAS ALMEIDA**
Coordenadora