

AVALIAÇÃO DA ADIÇÃO DE CLOREXIDINA, PMCC E IODOFÓRMIO NA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO HIDRÓXIDO DE CÁLCIO.

PINHEIRO, Lucas¹; KNABACH, César Blaas; LINHARES, Giane da Silva; SPOSITO, Otávio da Silva; BOLFONI, Marcos Rodolfo; JACINTO, Rogério de Castilho²

¹Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas; ²Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Semiologia e Clínica. rogeriocastilho@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

Bactérias e seus produtos, induzindo respostas inflamatórias e imunológicas, constituem-se no principal agente etiológico e de manutenção dos quadros de necrose pulpar e lesões periapicais.

O combate à infecção, entretanto, não deve restringir-se à luz do canal principal, pois os microrganismos são capazes de penetrar e colonizar os túbulos dentinários e as ramificações do complexo sistema de canais radiculares (LOVE, 2004). Nestas situações, onde os microrganismos estão inacessíveis à ação mecânica do instrumento endodôntico, faz-se necessária uma efetiva ação antimicrobiana e neutralizante de produtos tóxicos, bem como de dissolução tecidual, proporcionada pelas substâncias químicas e medicação intracanal

Mesmo em tratamentos endodônticos aparentemente adequados, o insucesso pode ocorrer pela persistência de infecção (NAIR, 2004). Nestes casos, um pequeno número de espécies tem sido detectado (NAIR, 2004), sendo o *Enterococcus faecalis* a mais freqüentemente encontrada (RÔÇAS *et al.*, 2004;).

Além disso, diferentes autores já relataram presença de espécies de fungos em casos de fracasso da terapia endodôntica (WALTIMO *et al.*, 1997), sendo a *Candida albicans* a mais prevalente.

Uma vez que o *Enterococcus faecalis* e a *Candida albicans* são os mais resistentes aos medicamentos intracanal comumente utilizados em Endodontia (RADCLIFFE *et al.*, 2004). O objetivo deste trabalho foi atividade antimicrobiana de medicamentos utilizados como curativo de demora em endodontia através de difusão em ágar.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS) TESTE DE CITOTOXICIDADE

A atividade antimicrobiana dos medicamentos foi testada contra o *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, através do método clássico de difusão em ágar e posterior leitura dos halos de inibição do crescimento microbiano.

Foi testada a atividade antimicrobiana dos seguintes medicamentos:

- 1- Iodofórmio + Soro fisiológico
- 2- Hidróxido de Cálcio [Ca(OH)₂] + Soro fisiológico
- 3- Gluconato de clorexidina gel 2%
- 4- Iodofórmio + Hidróxido de Cálcio [Ca(OH)₂] + Soro fisiológico

- 5- Iodofórmio + Hidróxido de Cálcio $[Ca(OH)_2]$ + Gluconato de clorexidina gel 2%
- 6- Hidróxido de Cálcio $[Ca(OH)_2]$ + Gluconato de clorexidina gel 2%
- 7- Pasta Calen[®] PMCC
- 8- Iodofórmio
- 9- Soro fisiológico (controle)

Preparo do inóculo

Os referidos organismos, que são anaeróbios facultativos, foram inicialmente cultivados em placas de Brain Heart Infusion Broth (BHI) por um período de 18-24 horas a 37°C, em atmosfera de 10% CO₂. Após o crescimento neste meio, colônias isoladas dos organismos foram suspensas em tubos contendo 5 mL de solução estéril de NaCl a 0,85% e agitados mecanicamente. Na seqüência, a solução foi ajustada em espectrofotômetro com absorvância de 800 nm, até atingir a concentração equivalente a 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ bactéria/mL).

Preparo das camadas de ágar e do inóculo

Foram utilizadas placas de 140 mm de diâmetro com o método de camada dupla.

Inicialmente foram preparadas placas contendo 40 mL de Mueller-Hinton Agar (MHA), que serviram de base para a camada de inóculo, preparada da seguinte maneira: foram preparados e autoclavados em frascos de vidro com tampas rosqueáveis, 40 mL de Brain Heart Infusion Agar (BHIA), que durante o processo de resfriamento, quando atingir 45°C, estando ainda em estado líquido, recebeu 400 μ L do inóculo microbiano, sendo o conjunto, agitado uniformemente. Este BHIA contendo 1% de inóculo microbiano foi distribuído sobre a camada sólida de MHA.

Colocação dos tubos de inox sobre a superfície do ágar

Com os meios de cultura já solidificados, tubos de inox com 6 mm de diâmetro interno, 8 mm de diâmetro externo e 10 mm de altura foram posicionados sobre a superfície do ágar. Cada tubo foi preenchido com 40 μ L de cada medicação a ser testada. As placas foram mantidas por 2 h à temperatura ambiente para permitir a difusão das medicações no ágar.

Confecção de poços no Ágar

Com os meios de cultura já solidificados, foram confeccionados poços no ágar utilizando um perfurador metálico estéril de 5 mm de diâmetro. Foram confeccionados até 5 poços em cada placa de Petri, os quais foram preenchidos, com o auxílio do "swab", ou seringa para aplicação de Calen[®], com as medicações a serem testadas. As placas foram mantidas por 2 h à temperatura ambiente para permitir a difusão das medicações no ágar.

Incubação

As placas foram incubadas a 37°C a 10% de CO₂. Após o período de incubação, foi adicionado às placas 5 mL de gel de ágar a 1% acrescentado de cloreto de trifeniltetrazóico (TTC) a 0,5. Após a solidificação do meio (5 min sobre toalha com gelo), as placas foram incubadas a 37°C por 15 min e posteriormente foi realizada a leitura das mesmas. Os halos de inibição do crescimento bacteriano foram medidos com o auxílio de um paquímetro milimetrado, e correspondente à

menor distância entre a superfície externa do cilindro (ou do poço preparado no ágar) e o início da região de crescimento microbiano.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que o *Enterococcus faecalis* é um microrganismo mais resistente do que a *Candida albicans* aos medicamentos testados. Contra o *Enterococcus faecalis*, as medicações mais efetivas, em ordem decrescente foram Clorexidina gel 2%, Ca(OH)₂ + Clorexidina gel 2% e Iodofórmio, sendo que as demais medicações não promoveram qualquer inibição do crescimento bacteriano. Contra a *Candida albicans*, os resultados, em ordem decrescente foram Clorexidina gel 2%; Iodoformio + Ca(OH)₂ + Clorexidina gel 2%; Ca(OH)₂ + Clorexidina gel 2%; Pasta Calen + PMCC; Ca(OH)₂ + NaCl; Iodoformio + Ca(OH)₂ + Clorexidina gel 2%. O medicamento Iodofórmio + NaCl não promoveu inibição do crescimento. O Ca(OH)₂ é a substância mais utilizada como medicação intracanal, porém estudos demonstram que sua atividade antimicrobiana, principalmente contra microrganismos resistentes, é muito aumentada quando da sua associação com outros antimicrobianos, como o PMCC, a clorexidina ou o iodofórmio (GOMES et al., 2006; ERCAN, et al., 2006). Assim como observado neste estudo.

No presente estudo, o iodofórmio não produziu halos de inibição do crescimento bacteriano, mas isso pode ser explicado pelas proporções em que foi utilizado, na proporção de 1:1 com o veículo, enquanto o recomendado seria uma proporção de 5:1.

Resultado semelhante foi observado em estudo que concluiu que a adição de iodofórmio não aumentou a atividade antimicrobiana da pasta H/P/G (SIQUEIRA JR. et al., 1997).

Estudos têm demonstrado que a clorexidina é o melhor agente antimicrobiano contra o *Enterococcus faecalis* (ERCAN, DALLI e DUÜLGERGIL, 2006) e também contra os microrganismos comumente encontrados na infecção endodôntica (KLIMM et al., 1989) tanto como irrigante quanto como medicação intracanal e no presente estudo foi demonstrado que a adição de clorexidina gel 2% ao Ca(OH)₂, assim como o PMCC, aumentaram a sua atividade antimicrobiana.

4 CONCLUSÃO

Em conclusão, a adição de medicamentos como a clorexidina e o PMCC ao Ca(OH)₂, aumentou a atividade antimicrobiana desta substância, enquanto o iodofórmio se mostrou inerte, devendo ser usado apenas para aumentar a radiopacidade.

5 REFERÊNCIAS

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 Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v.102, n.2, p.27-31, 2006.

Gomes BP, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v.102, n.4, p.544-50, 2006.

Klimm W, Zeumer H, Kloss HJ, Natusch I, Wildführ W. Chlorhexidine in the treatment of root canal infection and its sequels. **Z Stomatology**, v.86, n.3, p.131-8,1989.

Love RM. Clinical management of infected root canal dentin. **Practical Periodontics Aesthetic Dentistry**, V.8, n.6, p. 581-4, 1996.

Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. **Critical Review Oral Biology Medicine**, v.115,n.6, p.348-81, 2004.

Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Habahbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. **International Endodontics Journal**, v.37, n.7, p.438-46, 2004.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Alves FR, Santos KR Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: a molecular investigation. **Journal Endodontics**, v.30, n.9, p.638-43,2004.

Waltimo TM, Sirén EK, Torkko HL, Olsen I, Haapasalo MP. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. **International Endodontics Journal**, v.30,n.2, p.96-101, 1997.