

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
Faculdade de Odontologia
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)

**Avaliação da efetividade antimicrobiana de diferentes agentes químicos
na eliminação de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans***

Relatório Final

Apresentado à Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, como requisito da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso e para graduação no curso de Odontologia da Universidade de Passo Fundo.

Aluno(a): Alana Pontel

Orientador(a): Profa. Dra. Daniela Jorge Corralo

Passo Fundo, junho 2019.

Sumário

1. TÍTULO	3
2. EQUIPE EXECUTORA	3
2.1. Aluno	3
2.2. Orientador	3
3. RESUMO	3
4. PROBLEMA DE PESQUISA	4
5. JUSTIFICATIVA	5
6. REVISÃO DE LITERATURA	6
7.1. Objetivos gerais	15
7.2. Objetivos específicos	15
8. MATERIAIS E MÉTODOS	15
9. RESULTADOS	20
10. DISCUSSÃO	21
11. CONCLUSÃO	23
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
13. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO ALUNO	28

RELATÓRIO FINAL

1. TÍTULO

Avaliação da efetividade antimicrobiana de diferentes agentes químicos na eliminação de *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*.

2. EQUIPE EXECUTORA

2.1. Aluno

Nome: Alana Pontel

Matrícula: 142123

2.2. Orientador

Nome: Profa. Dra. Daniela Jorge Corralo

Matrícula: 5263

3. RESUMO

O objetivo do presente estudo, foi avaliar a efetividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio e do hipoclorito de cálcio em diferentes concentrações (1%, 2,5%, 5,25%) comparando-as a clorexidina 2%, na eliminação de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. As culturas puras de *E. faecalis* e *C. albicans* foram obtidas no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UPF. Em capela de fluxo laminar, foram preparadas suspensões microbianas das duas culturas, sendo padronizadas ao tubo de número 10 da escala de MacFarland MacFarland (concentração de $3 \cdot 10^6$ células/mL). Após 0,5 mL de cada suspensão foram vertidas em placas de Petri com meio de cultura Mueller-Hinton (para *E. faecalis*) e de agar Saboraud (para *C. albicans*). Sobre as culturas foram colocados os discos de papel estéreis, onde foram

aplicadas 20 uL das substâncias testes (hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio nas concentrações de 1%, 2,5% e 5,25% e da clorexidina 2%), separadamente, de acordo com a concentração e em duplicatas. As culturas foram incubadas por 48h a 37°C, em estufa bacteriológica. *E. faecalis* foi mais resistente a todos os produtos testados quando comparado a *C. albicans*. Nas concentrações de 1% e 2,5% o hipoclorito de cálcio mostrou superior ação antimicrobiana que o hipoclorito de sódio, mas inferior capacidade de eliminação deste micro-organismo comparada a clorexidina 2%. Na concentração de 5,25%, o hipoclorito de sódio foi mais efetivo frente aos micro-organismos testados. Concluiu que a clorexidina 2% foi o produto mais efetivo contra *E. faecalis*. Frente a *C. albicans* o hipoclorito de sódio a 5,25% teve mais efetividade, seguido de clorexidina a 2% e do hipoclorito de cálcio a 2,5%. Com exceção do hipoclorito de cálcio na concentração de 5,25%, este produto apresentou superior ação antimicrobiana nos micro-organismos testados comparado ao hipoclorito de sódio.

Palavras-chave: hipoclorito de cálcio; hipoclorito de sódio; ação antimicrobiana; *E. faecalis*; *C. albicans*

4. PROBLEMA DE PESQUISA

As substâncias químicas utilizadas para a desinfecção do canal radicular não preenchem todos os requisitos necessários de uma substância ideal, como: eliminar *debris* dos canais, dissolver tecidos orgânicos remanescentes, desinfetar o espaço do canal e promover lubrificação durante a instrumentação sem causar irritação aos tecidos biológicos (GOMES *et al.*, 2001; ZEHNDER, 2006; LOPES; SIQUEIRA Jr, 2013). As mais utilizadas hoje são o hipoclorito de sódio e a clorexidina. Entretanto, ambas apresentam algum tipo de limitação seja em relação a sua biocompatibilidade ou dissolução tecidual (ZEHNDER, 2006; GOMES *et al.*, 2013). O hipoclorito de sódio em diferentes concentrações quando extravasado pelo forame causa reações de citotoxicidade aos tecidos envolvidos (ZEHNDER, 2006; BORIN *et al.*, 2007; BONAN *et al.*, 2011; DUTTA; SAUNDERS, 2012). Já a clorexidina não possui a capacidade de dissolução de matéria orgânica (GOMES *et al.*, 2001; ZEHNDER, 2006; BONAN *et al.*, 2011; GOMES *et al.*, 2013).

Dessa forma, pergunta-se: "As substâncias químicas auxiliares de hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio e clorexidina, são eficientes na descontaminação dos canais radiculares?"; e, "Qual dessas substâncias é mais eficiente no tratamento endodôntico em canais infectados por *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*?".

5. JUSTIFICATIVA

O presente estudo teve como objetivo investigar a eficácia de substâncias químicas auxiliares utilizadas no preparo químico-mecânico dos canais radiculares, comparando a sua eficácia sobre os micro-organismos *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*.

Segundo dados da literatura, ainda não há uma substância química auxiliar de uso endodôntico que preencha todos os requisitos preconizados para uma substância química ideal (ZEHNDER, 2006; LOPES; SIQUEIRA Jr, 2013). Visando suprir esta lacuna estudos estão sendo conduzidos em busca de uma substância que cumpra estes requisitos. Uma destas substâncias é o hipoclorito de cálcio. O hipoclorito de cálcio é um composto químico, na forma de pó branco, também conhecido como sais halogênios oxiaçido, produzidos através da reação do calcário com o cloro, habitualmente usado na indústria, esterilização, branqueamento e purificação de tratamento de água (WHITTAKER; MOHLER, 1912; DUTTA; SAUNDERS, 2012; CECCHIN *et al.*, 2015; GOMES; SILVA, 2015). Esta solução apresenta qualidade antibacteriana contra *E. faecalis* dos canais radiculares (de ALMEIDA *et al.*, 2014; CECCHIN *et al.*, 2017), e tem potencial para dissolver tecidos em grau semelhante ao hipoclorito de sódio (DUTTA; SAUNDERS, 2012; CECCHIN *et al.*, 2015). Além disso, é bastante alcalino e possuem cloro em sua composição o que é ligeiramente importante para uma solução irrigadora. Também pode ser estável durante 30 dias em temperatura ambiente, sendo assim de fácil acesso no consultório odontológico (LEONARDO *et al.*, 2016; CECCHIN *et al.*, 2017).

Os produtos utilizados atualmente para a limpeza e irrigação dos canais radiculares apresentam algumas limitações. O hipoclorito de sódio pode extravasar pelo forame causando reações de citotoxicidade aos tecidos envolvidos (ZEHNDER, 2006; BORIN *et al.*, 2007; BONAN *et al.*, 2011; DUTTA; SAUNDERS, 2012; GOMES;

SILVA, 2015). Já a clorexidina não dissolve a matéria orgânica (GOMES *et al.*, 2001; ZEHNDER, 2006; BONAN *et al.*, 2011; GOMES *et al.*, 2013).

Portanto, torna-se justificável a realização de estudos que comparem e testem a capacidade de desinfecção de novas substâncias, sua qualidade e sua efetividade sobre micro-organismos.

6. REVISÃO DE LITERATURA

O canal radicular necrótico possui mais de 500 bactérias identificadas até o momento. Um micro-organismo comumente identificado e presente em infecções persistentes é o *Enterococcus faecalis*. Esta cepa bacteriana é uma bactéria Gram-positiva, extremamente resistente com capacidade de sobreviver a condições ambientais adversas e desfavoráveis, também possui uma capacidade de alcalinidade, resistindo muitas vezes ao pH elevado, podendo colonizar espaços adversos. Ele possui uma virulência que pode estar relacionada a resistência a certos medicamentos sendo assim uma bactéria simples que não precisa de outras bactérias para sua sobrevivência. Por este motivo, na terapia endodôntica, as soluções irrigadoras devem ser dotadas de ampla atividade antimicrobiana. As técnicas de instrumentação utilizadas no preparo químico-mecânico do canal radicular, nem sempre eliminam todos os micro-organismos, principalmente aqueles que se instalam nas irregularidades anatômicas do canal. Para a resolução de um processo infeccioso é necessário que as substâncias químicas utilizadas sejam dotadas de atividades químicas e físicas que as qualifiquem para este fim (ESTRELA *et al.*, 2002; ZEHNDER, 2006; FERREIRA, 2010; LOPES; SIQUEIRA, 2013).

Os fungos são também micro-organismos considerados habitantes normais da cavidade bucal, no entanto, podem causar doenças quando existem fatores locais ou sistêmicos favoráveis. A *Candida albicans* possui alta prevalência na saliva e no canal radicular (EGAN *et al.*, 2002). É um micro-organismo oportunista que pode modificar o mecanismo de defesa do hospedeiro, com o auxílio de várias características, como adesão a diferentes tipos de superfícies, produção de enzimas, transição morfológica ou formação do biofilme (WALTIMO *et al.*, 2004; GOMES *et al.*, 2010). *Candida albicans* geralmente encontra-se em culturas isoladas e puras, porém pode ser encontrada em conjunto com outros micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos. Tem a

capacidade de aderir e invadir túbulos dentinários e sobreviver a severas condições ambientais (O'DONNELL *et al.*, 2015).

GOMES *et al.* (2001) relataram algumas atividades das substâncias irrigadoras dentre elas: eliminar *debris* dos canais, dissolver tecidos orgânicos remanescentes, desinfetar o espaço do canal e promover lubrificação durante a instrumentação, sem causar irritação aos tecidos biológicos.

Bactérias e seus produtos são considerados agentes etiológicos primários do biofilme dental, cárie e necrose pulpar. O *Enterococcus faecalis* é capaz de manter infecções de difícil tratamento, pela resistência a agentes antimicrobianos, sendo responsável por 80-90% das infecções enterococais humanas (FERREIRA, 2010).

O *Enterococcus faecalis* pode sobreviver ao preparo químico-mecânico mesmo com o uso de substâncias químicas auxiliares potentes e desencadear uma infecção resistente. Este e outros microrganismos são difíceis de serem eliminados do interior dos túbulos dentinários, principalmente se organizados em biofilmes, pois apresentam resistência a diversas substâncias antimicrobianas utilizadas durante o preparo químico-mecânico (STUART *et al.*, 2006; LOPES; SIQUEIRA, 2013).

6.1 HIPOCLORITO DE SÓDIO

Em 1917, Barret difundiu o uso da solução de Dakin, também conhecida como hipoclorito de sódio, e relatou a eficiência dessa solução como anti-séptico. Em seguida, o hipoclorito de sódio a 5% (soda clorada) passou a ser usado para o preparo de canais radiculares e na descontaminação dos instrumentos. Por esse motivo, o mesmo tem sido usado durante décadas na desinfecção contra as bactérias. Esta substância tem sido usada pela sua excelente ação como material solvente inorgânico e amplo espectro de ação antimicrobiana e também reduz a tensão superficial (BORIN *et al.*, 2007; LOPES; SIQUEIRA, 2010). Assim, quanto maior a concentração maior será a dissolução tecidual. Porém, alguns autores defendem a teoria de que as soluções de hipoclorito de sódio a 1% são suficientemente efetivas não sendo necessário usar concentrações superiores (ZEHNDER *et al.*, 2006). Ainda, possui alguns efeitos colaterais, como citotoxicidade, gosto e cheiro desagradável e pode produzir reações alérgicas no paciente, quando em altas concentrações sobre os tecidos (BORIN *et al.*, 2007).

O hipoclorito de sódio (NaOCl) reduz as propriedades mecânicas da dentina, como a flexão, força, módulo de elasticidade e promove mudanças estruturais nos componentes da dentina orgânica, principalmente colágeno, formando uma superfície porosa e desmineralizada (SOUZA *et al.*, 2014; CECCHIN *et al.*, 2017).

Segundo as informações da revisão de literatura de Bonan *et al.* (2011), uma das características desejáveis de uma solução utilizada como irrigante do canal radicular é remoção de *smear layer*. No entanto, o hipoclorito de sódio é incapaz de remover totalmente a *smear layer* do dente. Os estudos analisados demonstram a capacidade do hipoclorito de sódio em atuar sobre o biofilme e sobre as bactérias localizados no interior dos túbulos dentinários. Além disso, é a solução mais escolhida pelos cirurgiões dentistas, por apresentar o maior número de requisitos desejáveis para a desinfecção (BONAN *et al.*, 2011).

Siqueira *et al.* (1998) analisaram efeito antimicrobiano de diferentes soluções irrigadoras, entre elas o hipoclorito de sódio, frente a quatro micro-organismos anaeróbios e quatro facultativos, geralmente encontrados em infecções endodônticas. O hipoclorito de sódio apresentou um efeito significativamente superior as outras soluções.

Vianna *et al.* (2009) testaram o hipoclorito de sódio e a clorexidina, em diferentes concentrações, sobre o *Enterococcus faecalis*. Foram usados dois métodos para este teste: o primeiro, difusão em ágar, e, o segundo, por diluição em caldo. E assim foi observado que a inibição foi inversa a concentração das soluções.

Wong e Cheung (2014) avaliaram o grau de desinfecção da dentina em duas concentrações diferentes de hipoclorito de sódio (0,5%, 3%). As concentrações reduziram o número de bactérias na camada mais superficial da dentina, enquanto que na mais profunda o que teve melhor efeito foi o hipoclorito de sódio a 3%. Mas não foi o suficiente para erradicar as bactérias da dentina.

Du *et al.* (2015) tiveram como objetivo em seu estudo avaliar o efeito antibacteriano do uso combinado de hipoclorito de sódio e selantes no canal radicular contra *E. faecalis* num biofilme dentinário de laboratório. Assim foram introduzidos *E. faecalis* nos túbulos dentinários e foram incubados por 3 semanas. Os biofilmes da dentina foram primeiramente submetidos a 5% de hipoclorito de sódio por 10 minutos e em seguida em MTA Fillapex, após foram introduzidas no canal radicular por 7, 30 e 60 dias. As proporções de bactérias mortas foram avaliadas microscopicamente, os efeitos avaliados foram de que a colocação de selante de canal após o tratamento com NaOCl

melhoram os efeitos antibacterianos contra *E. faecalis* nos túbulos dentinários. Mas poucos efeitos adicionais foram obtidos após 30 dias de exposição aos selantes.

Correa *et al.* (2016) testaram o tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) para avaliar a recuperação da força de ligação a dentina, tratada com hipoclorito de sódio e EDTA. Foram usados 73 coroas de incisivos bovinos cortadas para que houvesse a exposição da dentina, os espécimes foram polidos e distribuídos em grupos de acordo com o protocolo estabelecido 0,9% cloreto de sódio por 30 min, 5,25% hipoclorito de sódio por 30 min, EDTA 17% por 3 min e hipoclorito de sódio por 1 min. Após foram imersos em 0,5% ou 5% de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ por 1, 5 e 10 minutos, assim foram obtidas seis placas retangulares de cada espécime, e a interface dentina/resina foi testado usando uma máquina de teste universal. E assim concluiu-se que o uso de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ pode aumentar significativamente a ligação resistência da resina composta e da dentina de dentes tratados com NaOCl/EDTA, permitindo que as restaurações adesivas sejam aplicadas imediatamente após o tratamento endodôntico.

Goud *et al.* (2018) compararam a eficácia antibacteriana de irrigantes, contra *Enterococcus faecalis* utilizando a análise turbidométrica e método de contagem de colônias. Oitenta dentes pré-molares mandibulares humanos recém- extraídos de raiz única foram retirados. A abertura de acesso foi feita, instrumentada e autoclavada. As amostras foram inoculadas com *Enterococcus faecalis*, e incubadas a 37°C por três dias. As amostras foram divididas em quatro grupos. O grupo 1 foi irrigado com hipoclorito de sódio a 3%; Grupo 2 com clorexidina a 2%; grupo 3 com aloe vera; e Grupo 4 com solução salina a 0,9% (grupo controle). Todas as soluções irrigadoras testadas demonstraram um efeito antibacteriano contra *E. faecalis*. Os maiores efeitos antimicrobianos foram observados nas amostras tratadas com 2% de CHX. Não houve diferença estatisticamente significativa entre NaOCl a 3% e aloe vera.

Ballal *et al.* (2019) testaram a incorporação de um pó quelante, etidronato, comercializado para irrigação do canal radicular (Dual Rinse HEDP) numa solução de hipoclorito de sódio, avaliando os efeitos citotóxicos e genotóxicos não observados com o NaOCl sozinho. Esses efeitos em soluções diluídas, foram avaliada em fibroblastos de pulmão de hamster chinês usando o MTT. Nas misturas de NaOCl e etidronato, o cloro livre disponível foi perdido completamente após 24h, e o pH caiu mais de 3 unidades. Mas, a capacidade do etidronato em quelar Ca^{2+} foi mantido. As novas misturas de NaOCl e etidronato não foram mais tóxicas que o NaOCl isolado, enquanto as misturas de 24 h foram menos tóxicas e estatisticamente semelhantes às etidronato. E o

etidronato mostrou pouca citotoxicidade e nenhuma genotoxicidade nas diluições testadas.

Siddique *et al.* (2019) tiveram como objetivo do estudo avaliar o precipitado formado na combinação de diferentes irrigantes, Quatro diferentes irrigantes, 2% de gluconato de CHX, 3% de NaOCl, 5% de neem e 5% de tusli foram tomados em diferentes tubos de ensaio, Cada grupo foi observado durante 2 min para a formação de qualquer precipitado, e o precipitado formado foi pesado e analisado, A presença de PCA (é um composto tóxico e carcinogênico conhecido que pode levar à metemoglobinemia em humanos). Foi detectada no grupo 1 (CHX + NaOCl), no grupo 2 (CHX + nim) e no grupo 3 (CHX+ tusli) em todos os métodos sensíveis empregados.

6.2 HIPOCLORITO DE CÁLCIO

O hipoclorito de cálcio é um pó branco utilizado para branqueamento entre outros tipos de uso. Esse pó é incorporado em água, podendo assim preparar soluções com concentração mais precisas, em comparação ao hipoclorito de sódio e ainda apresenta maior quantidade de cloro. Entretanto existem poucas informações disponíveis a respeito das propriedades do hipoclorito de cálcio em odontologia (WHITTAKER; MOHLER, 1912; DUTTA; SAUNDERS, 2012; GOMES; SILVA, 2015). Recentemente alguns estudos, relataram a possibilidade de usar o hipoclorito de cálcio na endodontia, como uma solução química auxiliar (DUTTA; SAUNDERS, 2012; de ALMEIDA *et al.*, 2013).

Whittaker e Mohler (1912) estudaram a eficácia do hipoclorito de cálcio na esterilização de garrafas de leite. As garrafas de leite usadas nos experimentos foram selecionadas daquelas já limpas e prontas para reabastecimento com leite para distribuição, então foi feita a contagem das bactérias antes de serem imersas no hipoclorito e após. O tempo de exposição foi de 1 hora e 20 minutos. A contagem média antes da imersão foi de 120.000 de bactérias por garrafa, e após foi de 45 por garrafa. Ocorreu uma desinfecção significativa, o que comprova que hipoclorito é uma boa opção de solução contra bactérias.

Swain *et al.* (2012) indicaram que o hipoclorito de cálcio além de ser de baixo custo, possui várias vantagens, entre elas estão: rápida ação, vasto espectro, fácil manipulação, solúvel em água, atóxico.

Taneja *et al.* (2014) realizaram um estudo onde foi comparado algumas soluções na dissolução de tecido pulpar humano, entre elas foi usado hipoclorito de cálcio em diferentes concentrações, e assim concluiu-se que ambas soluções foram eficientes para dissolução em 60 minutos.

Oliveira *et al.* (2014), avaliaram algumas soluções sobre a rugosidade da dentina, e concluíram que o hipoclorito de cálcio, alterou a rugosidade da dentina quase tanto quanto o hipoclorito de sódio.

O hipoclorito de cálcio foi proposto como substância irrigante recentemente. Ele ioniza quando em solução aquosa liberando cálcio (DUTTA; SAUNDERS, 2012). O hipoclorito de cálcio não prejudica as propriedades mecânicas da dentina durante 30 minutos (CECCHIN *et al.*, 2017) e possivelmente a degradação de tecido orgânico deve ser menor do que a do hipoclorito de sódio (DUTTA; SAUNDERS, 2012). A tensão superficial é menor, sugerindo que o hipoclorito de cálcio não penetra totalmente na dentina e em função disso não promove modificação nas propriedades mecânicas (LEONARDO *et al.*, 2016; CECCHIN *et al.*, 2017).

De Almeida *et al.* (2014) estudaram o hipoclorito de cálcio associado a irrigação ultrassônica em canais radiculares de dentes bovinos infectados por *Enterococcus faecalis*. Os resultados foram parecidos com a do hipoclorito de sódio. Gomes *et al.* (2015) relatou em seu estudo que o hipoclorito de cálcio possui ação antimicrobiana similar ao hipoclorito de sódio frente ao *E. faecalis*. Quanto maior a concentração do hipoclorito de cálcio maior a sua ação.

Cecchin *et al.* (2017) avaliaram as propriedades mecânicas da dentina: resistência a tração (UTS), resistência a flexão e resistência a fratura. Para o teste foram usadas dentina em forma de feijão, dentina em forma de ampulheta e raiz de dentes humanos, foram usadas 3 substâncias auxiliar entre elas o hipoclorito de cálcio, aplicadas em dentina por 30 minutos. Os valores de cada teste mecânico foram avaliados e observou-se que não houve redução das propriedades mecânicas da dentina com o uso do hipoclorito de cálcio durante esses 30 minutos.

Dal Bello *et al.* (2019) avaliaram a efetividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio e cálcio utilizando instrumentação recíproca em sessenta canais radiculares, foram inseridos com *E. faecalis* por 14 dias. As amostras foram divididas em seis grupos. Os grupos 3, 4, 5 e 6 que continham hipoclorito de cálcio e sódio em diferentes concentrações, apresentaram as menores médias de contaminação comprovando que essa técnica pode ser uma eficaz alternativa para a descontaminação de canais

radiculares contaminado por *E. faecalis*.

Souza *et al.* (2018) estudaram a atividade antimicrobiana de soluções de hipocloritos e instrumentação recíproca associada à terapia fotodinâmica (TFD). Foram usados cento e trinta e dois canais radiculares, os mesmo foram ampliados para arquivo #35 K e infiltrados com *E. faecalis* por 14 dias. As 132 amostras foram divididas aleatoriamente em onze grupos. A maior capacidade de promover a redução bacteriana foi observada nos grupos que incluíam a hipoclorito sódio e cálcio, proporcionando a eliminação efetiva do *E. faecalis*.

Dumani *et al.* (2019) tiveram como objetivo a comparação da eficácia antimicrobiana do hipoclorito de cálcio ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$) e do hipoclorito de sódio (NaOCl) associado ou não ao érbio, cromo: ítrio, escândio, gálio, granada (Er, Cr: YSGG) irradiação em canais radiculares infectados com *Enterococcus faecalis*. Nos canais radiculares de 105 pré-molares unirradiculares, foram introduzidos *E. faecalis* e incubados por 21 dias. Os dentes foram divididos aleatoriamente em sete grupos experimentais, de acordo com o protocolo de descontaminação. Amostras microbiológicas foram coletadas e contadas antes e depois dos procedimentos de irrigação e as porcentagens de redução foram calculadas. Os números médios de bactérias recuperadas no grupo irrigação com seringa (SI) com água destilada (DW) foram maiores do que nos outros grupos experimentais, o laser com ou sem solução de irrigação tem efeitos antimicrobianos nos túbulos dentinários infectados com *E. faecalis*.

6.3 CLOREXIDINA

A clorexidina (CHX) começou a ser usada para controlar a placa bacteriana em 1959. Na odontologia o uso começou a ser expandido na década de 1970 após a publicação de alguns estudos (LOE; SCHIOTT, 1970; LOE *et al.*, 1976; GOMES *et al.*, 2013). Atualmente é considerado o padrão-ouro dos anti-sépticos orais e é extensamente pesquisado em odontologia (FARDAL; TURNBELL, 1986; GOMES *et al.*, 2013).

A clorexidina é uma molécula catiônica que exerce os seus efeitos antibacterianos por perturbar a integralidade da membrana citoplasmática, causando vazamento do conteúdo intracelular. É uma substância ligeiramente opalescente, inodora, têm um sabor extremamente amargo, mas que pode ser mascarado quando para

uso oral. Também é reconhecida mundialmente por sua substantividade (e somente CHX e tetraciclina possuem essa propriedade até agora comprovada), ampla atividade antimicrobiana e baixa citotoxicidade (DENTON, 1991; KHADEMI *et al.*, 2006; ZEHNDER, 2016). É eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, e anaeróbios facultativos (FARDAL; TURNBELL, 1986; GREENSTEIN *et al.*, 1986; FERRAZ *et al.*, 2001; GOMES *et al.*, 2013). Demonstra um bom desempenho clínico, propriedades lubrificantes, ação reológica quando apresentado em forma de gel; inibe a metaloproteinase, é quimicamente estável e solúvel em água. A CHX foi recomendada como uma alternativa ao NaOCl, em casos nos quais a substância auxiliar corre o risco de ser extravasada para os tecidos. É indicada por não causar dor, alergia ou desconforto ao paciente caso seja extravasada (GOMES *et al.*, 2013). Porém, possui uma desvantagem na dissolução de tecido orgânico. No entanto, estudos mostraram que CHX gel 2% mantém as paredes dentinárias mais limpas quando comparadas com o NaOCl, compensando a sua incapacidade de dissolver o tecido orgânico, promovendo uma melhor limpeza mecânica do canal radicular e removendo detritos de dentina (FERRAZ *et al.*, 2001; GOMES *et al.*, 2013).

Para fins endodônticos, a CHX pode ser usada em uma apresentação líquida ou em gel (GOMES *et al.*, 2013). Estudos mostraram que a CHX gel 2%, possui vantagens em relação à solução de CHX a 2%. O gel CHX lubrifica as paredes do canal radicular, o que reduz o atrito entre o instrumental e a dentina, facilitando a instrumentação e diminuindo os riscos de quebra do instrumento dentro do canal. Além disso melhora a eliminação de tecidos orgânicos, o que compensa sua incapacidade de dissolvê-los (FERRAZ *et al.*, 2001). Possui uma vida útil de pelo menos um ano, desde que a embalagem seja adequada, em uma garrafa escura e refrigerada, podendo alterar suas propriedades e sua coloração após esse tempo (DENTON, 1991; GREENSTEIN *et al.*, 1986; GOMES *et al.*, 2013).

Souza *et al.* (2013) estudaram fragmentos de coroas de incisivos bovinos, contendo esmalte e dentina. Antes da imersão nas substâncias de clorexidina 2% hipoclorito de sódio 5,25% e EDTA 17%, eles foram avaliados com referência a cor do esmalte e da dentina. Então pode-se observar uma mudança de cor no esmalte e na dentina em grupos tratados com CHX gel, NaOCl e CHX gel, NaOCl, EDTA. E uma mudança de cor apenas em dentina nos grupos solução de CHX, NaOCl e solução de CHX, NaOCl, EDTA. Quando usado antes do NaOCl, a CHX tem a capacidade para induzir mudança de cor no dente.

Souza *et al.* (2017) investigaram a retenção de clorexidina gel 2%, clorexidina líquida 2% e QMix dentro do canal radicular durante 24h, 30, 90 e 120 dias, por análise química em um estudo *in vitro*, usando 80 dentes extraídos, que foram divididos em quatro grupos. As raízes foram preparadas e divididas longitudinalmente em 2 metades de cada raiz, formando subgrupos. A quantidade de substância foi medida igualmente e aplicada sobre estas raízes. E então observou-se que a substantividade diminuiu significativamente para o QMix independentemente do tempo de exposição. Enquanto que para clorexidina gel após 24h foram observados valores maiores de substantividade, para clorexidina gel e líquida após 30, 90 e 120 dias de avaliação não se observou diferença entre elas.

Souza *et al.* (2017) utilizaram 45 dentes de pacientes com idade entre 20 e 35 divididos em 3 grupos. No primeiro, foi realizada instrumentação manual com limas k-file, no segundo, instrumento rotatórios (Pro Taper), e, um terceiro, com instrumentos alternativos (Recipro R25). As raízes foram preparadas e divididas longitudinalmente em duas metades de cada raiz, formando subgrupos, onde foram avaliadas a substantividade durante 48h, 7 dias e 30 dias de incubação. A quantidade de clorexidina foi medida através do líquido de alta performance em fase reversa cromatográfica. Os resultados obtidos demonstraram que a instrumentação manual não teve diferença significativa, mas uma alta substantividade foi observada. A substantividade da clorexidina é mais baixa nos reciprocantes comparado ao manual e ao rotativo.

Vasudeva *et al.* (2017) estudaram *in vitro* foi realizado para avaliar a desinfecção dos túbulos dentinários utilizando gel de clorexidina a 2%, mel, gel de aloe vera, curcuma longa, gel de própolis e hidróxido de cálcio contra *Enterococcus faecalis*. Duzentos e dez primeiros pré-molares mandibulares humanos foram infectados com *Enterococcus faecalis* por 21 dias. As amostras foram divididas em 7 grupos. O gel de clorexidina 2% foi mais eficaz, seguido pela própolis e pela cúrcuma longa.

Samiei *et al.* (2018) compararam os efeitos antibacterianos de dois géis contendo nanopartículas de óxido de zinco e óxido de zinco / prata e uma mistura de hidróxido de cálcio e clorexidina 0,12% como medicamento intracanal em canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) em diferentes intervalos de tempo. Foram usados 132 dentes de raiz única infectados com *E. faecalis*, então diferentes medicamentos intracanaís foram usados pelos períodos de 3, 7 e 14 dias. A mistura de hidróxido de cálcio / clorexidina como medicamento intracanal foi mais efetiva que géis de óxido de zinco e óxido de zinco / nanopartículas de prata.

7. OBJETIVOS

7.1. Objetivos gerais

Avaliar, *in vitro*, a efetividade antimicrobiana de diferentes agentes químicos, utilizados para o preparo químico mecânico de canais radiculares, na eliminação de *E. faecalis* e *C. albicans*.

7.2. Objetivos específicos

1. Comparar e testar a efetividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio nas concentrações de 1%, 2,5% e 5,25% e da clorexidina 2% sobre *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*.

Hipótese: A hipótese testada é que as substâncias avaliadas, o hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio, nas concentrações compatíveis, e a clorexidina 2% possuem a mesma efetividade sobre os microrganismos testados.

8. MATERIAIS E MÉTODOS

8.1. Delineamento do estudo

Este estudo foi realizado na Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, após a sua prévia autorização pela Direção do curso e do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade de Passo Fundo.

O experimento realizado foi um estudo *in vitro* desenvolvido no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade de Passo Fundo.

8.2. Desenho experimental

1. Etapa inicial

1.1 Preparo e semeadura dos micro-organismos

A bactéria e o fungo foram preparados no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo (ICB). O laboratório de pesquisa CEPA- Centro de Pesquisa em Alimentação da Universidade de Passo Fundo fez a manipulação prévia dos micro-organismos de acordo com protocolo específico.

Os procedimentos de semeadura, isolamento da bactéria e do fungo, foram realizados no interior de uma câmara de fluxo laminar previamente higienizada com álcool 70%, esterilizada com luz ultravioleta por um período de 30 minutos, e os instrumentos utilizados foram previamente esterilizados.

1.2. Preparo e incubação do micro-organismo

Foi feita a semeadura da bactéria e do fungo para a obtenção da cultura pura dos micro-organismos *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, em placas de Petri contendo Agar BH (Brain Heart) e Agar *Sabourad*, respectivamente. Estas foram incubadas por 48h em estufa bacteriológica, a 37 graus Celsius (figura 1)

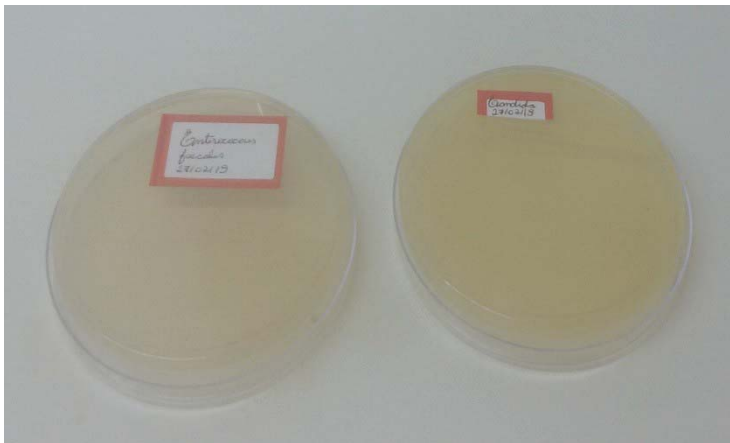


Figura 1. Culturas de *E. faecalis* e *C. albicans* puras, semeadas em placas de Petri, após serem incubadas. Passo Fundo-RS, 20

1.3. Preparo das suspensões microbianas

Após a confirmação do seu crescimento, e que estavam puras, foi feito o repique dos micro-organismos para tubos de ensaio contendo água destilada estéril. Desta forma obteve-se duas suspensões, um referente a bactéria *Enterococcus faecalis* e, outra, do fungo *Candida albicans*.

As suspensões foram padronizadas ao tubo número 10 da escala de MacFarland, correspondendo a uma concentração de $3 \cdot 10^6$ células/mL (SILVA, 1999) como mostrado na figura 2.



Figura 2. Imagem das suspensões de *C. albicans* e *E. faecalis* já padronizadas com o tubo número 10 da escala de MacFarland. Passo Fundo-RS, 2019.

1.4. Avaliação das substâncias pelo teste de sensibilidade antimicrobiana

Foram preparadas placas de Petri com meio de cultura ágar Muller Hinton (MH) e ágar Sabourad (AS). A suspensão microbiana de *E. faecalis* foi vertida sobre o meio de cultura MH (0,5ml) e espalhado pela superfície do meio de cultura com o auxílio de uma alça de Drigalski. O mesmo foi feito com a suspensão microbiana de *C. albicans* sobre o meio AS.

As substâncias desinfetantes testadas foram aplicadas com o auxílio de uma micropipeta graduada, sobre discos de papel estéreis previamente colocados sobre o meio de cultura (10-15 uL de cada substância teste). As substâncias foram testadas separadamente de acordo com a concentração, juntamente com os controles positivo e

negativo (figura 1, A e B), para posterior avaliação do halo de inibição das substâncias. Os testes foram realizados em duplicata (figura 4).

Os grupos testados foram:

- G1: Na(OCl) 1%
- G2: Na(OCl) 2,5%
- G3: Na(OCl) 5,25%
- G4: Ca(OCl)₂ 1%
- G5: Ca(OCl)₂ 2,5%
- G6: Ca(OCl)₂ 5,25%
- G7: gel de clorexidina CHX 2% (controle positivo)
- G8: soro (controle-negativo)

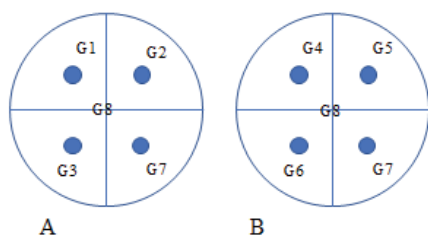


Figura 3. Desenho esquemático das placas de cultura com os discos de papel, onde foram colocadas as soluções desinfetantes teste (G1; G2; G3; G4; G5; G6) e os controles positivo (G7) e negativo (G8). Em A: Hipoclorito de sódio nas concentrações de 1%, 2,5% e 5,25%; em B: Hipoclorito de cálcio nas concentrações de 1% , 2,5% e 5,25%. Os testes foram realizados em duplicatas. Passo Fundo-RS, 2019

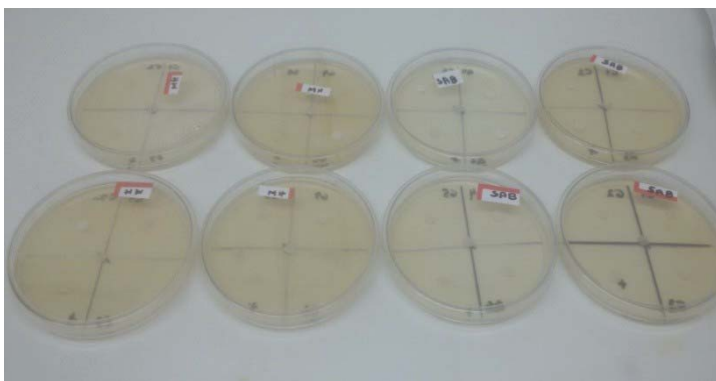


Figura 4. Imagem das placas de cultura já com os discos de papel e as substâncias desinfetantes em duplicatas. Passo Fundo-RS, 2019

1.5. Aferição do halo de inibição:

A avaliação do halo de inibição do crescimento microbiano (HICM) foi feita através do auxílio de uma régua plástica milimetrada. A media dos HICM formados nas

culturas em duplicata foram medidas em milímetros.

Foram considerados como eficazes os produtos que apresentaram HICM igual ou superior a 13 mm de diâmetro. Halos com diâmetros entre 10 a 12,9 mm foram considerados como pouco eficazes. Diâmetros de HICM iguais ou maiores a 15 mm foram considerados muito eficazes no controle dos micro-organismos *E. faecalis* e *C. albicans*. Halos inferiores a 10 mm foram considerados ineficazes ou nulos.

8.3. Análise Estatística

As médias dos halos de inibição do crescimento microbianos serão apresentados na forma de tabelas e gráficos.

9. RESULTADOS

Os resultados obtidos no experimento realizado *in vitro* podem ser observados na figura 5 e 6 e na tabela 1.

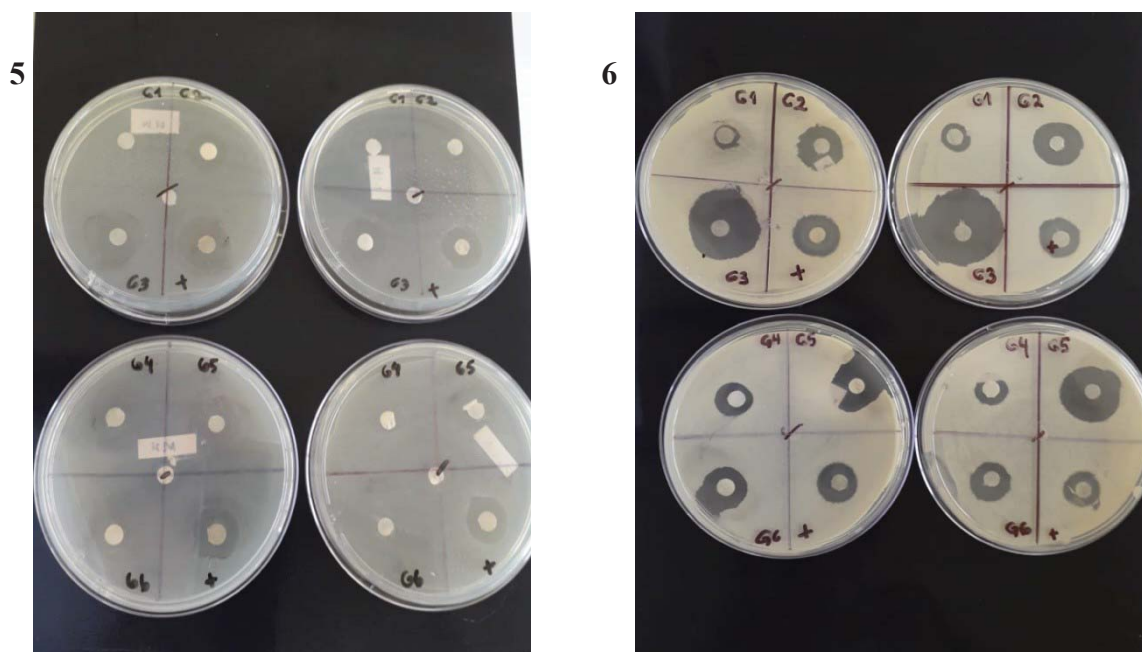


Figura 5 e 6. Placas de Petri com os halos de inibição do crescimento microbiano (HICM) com as substâncias testes (G1: Na(OCl) 1%; G2: Na(OCl) 2,5%; G3: Na(OCl) 5,25%; G4: Ca(OCl)₂ 1%; G5: Ca(OCl)₂ 2,5%; G6: Ca(OCl)₂ 5,25%; G7: CHX 2% gel (controle positivo); G8: água destilada estéril) e as culturas de *C. albicans* e *E. faecalis*, respectivamente, em duplicatas. Passo Fundo-RS, 2019

Tabela 1. Média dos HICM observados para os produtos testados (G1: Na(OCl) 1%; G2: Na(OCl) 2,5%; G3: Na(OCl) 5,25%; G4: Ca(OCl)₂ 1%; G5: Ca(OCl)₂ 2,5%; G6: Ca(OCl)₂ 5,25%; G7: CHX 2% gel (controle positivo); G8: água destilada estéril) frente a culturas de *E. faecalis* e de *C. albicans*. Passo Fundo-RS, 2019

Grupos	Média dos HICM em milímetros	
	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
G1	7	8,8
G2	10,8	13,9
G3	14,5	21,5
G4	8,3	13,8
G5	13,8	15,5
G6	9,8	12,8
G7 (positivo)	16,3	15,6
G8 (negativo)	0	0

O teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA) demonstrou que:

- *E. faecalis* mostrou ser mais resistente aos produtos testados nas diferentes concentrações quando comparado a *C. albicans*. O halo de inibição (HICM) máximo obtido frente a *E. faecalis* foi de 14,5 mm, sendo inferior ao halo obtido pelo controle positivo (clorexidina 2%) (figura 5, tabela 1).

- a ação antimicrobiana dos produtos testados foi superior em todos os grupos frente à *C. albicans*, obtendo um halo de inibição de crescimento de 21,5 mm no G3 (Na(OCl) 5,25%). E, com exceção do G1 (Na(OCl) 1%), todos os halos foram superiores a 12,8 mm (figura 6, tabela 1).

- os grupos G4 (Ca(OCl)₂ 1%) e G6 (Ca(OCl)₂ 5,25%) só foram eficientes contra o fungo *C. albicans* (figuras 6, tabela 1).

- o G3 (Na(OCl) 5,25%) teve maior ação antimicrobiana em relação aos dois micro-organismos testados. Sobre *E. faecalis* esse produto apresentou um potencial de ação moderado semelhante ao potencial do G5 (Ca(OCl)₂ 2,5%). Frente a *C. albicans* o G3 (Na(OCl) 5,25%) teve elevada ação antimicrobiana seguido do G5 (Ca(OCl)₂ 2,5%), G2 (Na(OCl) 2,5%) e G4 (Ca(OCl)₂ 1%), respectivamente (figuras 5 e 6, tabela 1).

- O G1 (Na(OCl) 1%) não foi eficiente contra os micro-organismos *E. faecalis* e *C. albicans* (figuras 5 e 6, tabela 1).

- O fungo *C. albicans* demonstrou ser mais sensível aos produtos testados do que *E. faecalis*, com exceção do produto G5 ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 2,5%) e da clorexidina a 2% (controle positivo) (figuras 5 e 6, tabela 1).

10. DISCUSSÃO

O presente estudo investigou a eficácia das substâncias químicas auxiliares ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$: hipoclorito de cálcio; NaOCl: hipoclorito de sódio; e, CHX: clorexidina) utilizadas no preparo químico-mecânico dos canais radiculares, comparando a sua eficácia sobre os micro-organismos *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*.

As técnicas de instrumentação utilizadas no preparo químico mecânico do canal radicular, nem sempre eliminam todos os micro-organismos, principalmente os que se instalam nas irregularidades dos canais, sendo necessário que as substâncias químicas utilizadas sejam dotadas de atividades químicas e físicas que se qualifiquem para este fim. Porém, a eficácia das substâncias contra os micro-organismos endodônticos é crítica, pois nenhum preenche todos os requisitos necessários (ESTRELA *et al.*, 2002; ZEHNDER, 2006; FERREIRA, 2010; LOPES; SIQUEIRA, 2013).

Recentemente, alguns estudos investigaram a atividade antimicrobiana de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ na odontologia. Este material mostrou resultados favoráveis na endodontia, como uma solução química auxiliar (DUTTA; SAUNDERS, 2012; de ALMEIDA *et al.*, 2014). Whittaker e Mohler (1912) utilizaram o hipoclorito de cálcio para desinfecção de garrafas de leite, obtendo significativa desinfecção, comprovando que o hipoclorito de cálcio é uma boa substância na eliminação de bactérias. Em outra investigação, de Almeida *et al.* (2014) descobriram que o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ teve melhor ação antibacteriana em comparação com NaOCl como irrigante de canal radicular após a agitação com energia ultrassônica. No presente estudo, três diferentes concentrações de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ foram testadas sobre *E. faecalis* e *C. albicans*, mostrando maior ação antimicrobiana frente a estes micro-organismos quando comparado ao NaOCl, nas mesmas concentrações, exceto na concentração de 5,25%; e, inferior a ação antimicrobiana da CHX a 2%.

O hipoclorito de sódio é uma substância que tem sido usada durante décadas na desinfecção contra as bactérias. Esta substância tem sido usada pela sua excelente ação

como material solvente inorgânico e amplo espectro de ação antimicrobiana e também reduz a tensão superficial. Mas, ainda, possui alguns efeitos colaterais, como citotoxicidade, gosto e cheiro desagradável e pode produzir reações alérgicas no paciente, quando em altas concentrações sobre os tecidos (BORIN *et al.*, 2007; LOPES; SIQUEIRA, 2010). Siqueira *et al.* (1998) avaliaram o efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio e outros irrigantes, observando um significativo efeito comparado as demais substancias. No presente estudo, a solução de NaOCl a 5,25% mostrou ser mais efetiva na eliminação de *E. faecalis* e *C. albicans* (NaOCl 5,25% = 14,5 mm e 21,5 mm, respectivamente) do que o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ na mesma concentração ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5,25% = 9,8 mm e 12,8 mm, respectivamente).

Gomes *et al.* (2015) relatou em sua tese que o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ possui ação antimicrobiana similar ao NaOCl frente ao *E. faecalis* e que quanto maior a concentração do hipoclorito de cálcio maior a sua ação. No presente estudo entretanto, observou-se que nas concentrações de 1% e 2,5%, o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ foram superiores ao NaOCl.

A reduzida atividade antimicrobiana do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ a 5,25% frente a *E. faecalis* e *C. albicans* não possui explicação na literatura atual. Os autores sugerem que possa ter ocorrido falha no processo de manipulação das soluções, embora as mesmas tenham sido obtidas em uma farmácia de manipulação conhecida no município de Passo Fundo-RS. Foi realizado um teste complementar (dados não mostrados) que confirmaram os resultados obtidos. Uma segunda possibilidade pode ser o fato de que o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ em concentração de 2,5% já atinja o seu potencial máximo de inibição do crescimento desses micro-organismos.

Para fins endodônticos, a CHX pode ser usada em uma apresentação líquida ou em gel (GOMES *et al.*, 2013). Estudos mostraram que a CHX gel 2%, possui vantagens em relação à solução de CHX a 2%. O gel CHX lubrifica as paredes do canal radicular, o que reduz o atrito entre o instrumental e a dentina, facilitando a instrumentação e diminuindo os riscos de quebra do instrumento dentro do canal. Além disso, melhora a eliminação de tecidos orgânicos, o que compensa sua incapacidade de dissolvê-los (FERRAZ *et al.*, 2001). Vasudeva *et al.* (2017) observou em seu estudo realizado para avaliar a desinfecção dos túbulos dentinários utilizando gel de CHX a 2%, mel, gel de aloe vera, curcuma longa, gel de própolis e hidróxido de cálcio contra *E. faecalis*, que o gel de CHX 2% foi mais eficaz. Verificou-se, neste estudo, que *E. faecalis* é mais resistente aos produtos testados nas diferentes concentrações quando comparado a *C.*

albicans. Foi observado também que o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ e NaOCl possuem quase a mesma efetividade para a bactéria *E. faecalis* e contra a *C. albicans* nas concentrações de 1% e 2,5%. O NaOCl a 5,25% sobre a *C. albicans* teve uma maior efetividade.

No presente estudo a solução de CHX 2% foi utilizada como controle positivo e demonstrou a melhor ação antimicrobiana frente aos micro-organismos sendo inferior só ao NaOCl a 5,25% com relação a *C. albicans*.

11. CONCLUSÃO

Este estudo concluiu que a clorexidina a 2% foi o produto mais efetivo contra *E. faecalis*. Frente a *C. albicans*, o hipoclorito de sódio a 5,25% teve mais efetividade, seguido da clorexidina a 2% e do hipoclorito de cálcio a 2,5%. Com exceção do hipoclorito de cálcio na concentração de 5,25%, este produto apresentou superior ação antimicrobiana nos micro-organismos testados comparado ao hipoclorito de sódio.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALLAL, N. V.; DAS, S.; RAO, B. S. S.; ZEHNDER, M.; MOHN, D. Chemical, cytotoxic and genotoxic analysis of etidronate in sodium hypochlorite solution. *Int Endod J*, 2019.
- BONAN, R. F.; BATISTA, A. U. D.; HUSSNE, R. P. Comparação do Uso do Hipoclorito de Sódio e da Clorexidina como Solução Irrigadora no Tratamento Endodôntico: Revisão de Literatura. *Rev Bras Ciên Saúde*, v. 15, n. 2, p. 237-244, 2011.
- BORIN, G.; BECKER, A. N.; OLIVEIRA, E. P. M. A História do Hipoclorito de Sódio e a sua Importância como Substância Auxiliar no Preparo Químico Mecânico de Canais Radiculares. *Revista de Endodontia Pesquisa e Ensino On Line*, v. 3, n. 5, p 1-5, 2007.
- CECCHIN, D.; GIARETTA, V. S.; CADORIN, B. G.; SOUZA, M. A.; VIDAL, C. M. P.; FARINA, A. P. Effect of synthetic and natural-derived novel endodontic irrigant solutions on mechanical properties of human dentin. *J Mater Sci Mater Med.*, v. 28, n. 9, p. 141, 2017.
- CORRÊA, A. C. P.; CECCHIN, D.; DE ALMEIDA, J. F. A.; GOMES, B. P. F. A.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. R. Sodium Thiosulfate for Recovery of Bond Strength to Dentin Treated with Sodium Hypochlorite. *J Endod*, v. 42, n. 2, p. 284-288, 2016.

DAL BELLO, Y.; MEZZALIRA, G. I.; JAGUSZEWSKI, L. A.; HOFFMANN, I. P.; MENCHIK, V. H. S.; CECCHIN, D.; SOUZA, M. A. Effectiveness of calcium and sodium hypochlorite in association with reciprocating instrumentation on decontamination of root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Aust Endod J*, v. 45, n. 1, p. 92-97, 2019.

DE ALMEIDA, A. P.; SOUZA, M. A.; MIYAGAKI, D. C.; DAL BELLO, Y.; CECCHIN, D.; FARINA, A. P. Comparative Evaluation of Calcium Hypochlorite and Sodium Hypochlorite Associated with Passive Ultrasonic Irrigation on Antimicrobial Activity of a Root Canal System Infected with *Enterococcus Faecalis*: An *In Vitro* study. *J Endod*, v. 40, n. 12, p. 1953-7, 2014.

DENTON, G.W. Chlorhexidine. In: Disinfection. *Sterilization and preservation*. 4 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 274-289.

DU, T.; WANG, Z.; SHEN, Y.; MA, J.; CAO, Y.; HAAPASALO, M. Combined Antibacterial Effect of Sodium Hypochlorite and Root Canal Sealers against *Enterococcus faecalis* Biofilms in Dentin Canals. *J Endod*, v. 41, n. 8, p. 1294-1298, 2015.

DUMANI, A.; TANRISEVER, D.; SIHAY, D.; KUZU, S. B.; YILMAZ, S.; GUVENMEZ, H. K. Efficacy of calcium hypochlorite with and without Er,Cr: Yttrium, scandium, gallium, garnet laser activation on *Enterococcus faecalis* in experimentally infected root canals. *Niger J Clin Pract*, v. 22, n. 2, p. 215-220, 2019.

DUTTA, A.; SAUNDERS, W. P. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. *J Endod*, v. 38, n. 10, p. 1395-1398, 2012.

EGAN, M. W.; SPRATT, D.A.; NG, Y. L.; LAM, J. M.; MOLES, D. R.; GULABIVALA, K.
Prevalence of yeast in saliva and root canals associated with apical periodontitis. *Int Endod J*, v. 35, n. 4, p. 321-9, 2002.

FARDAL, O.; TURNBULL, R. S. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc*, v. 112, n. 6, p. 863-869, 1986.

FERRAZ, C. C.; GOMES, B. P.; ZAIA, A. A.; TEIXEIRA, F. B.; SOUZA-FILHO, F. J. *In vitro* assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod*, v. 27, n. 7, p. 452-455, 2001.

FERREIRA, C. X. M. *Ação Antimicrobiana de Diferentes Medicamentos Intracanal Contra Isoladas Endodônticas de Enterococcus Faecalis*. 2010. Dissertação (Mestrado em Odontologia/Endodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro. 2010.

GREENSTEIN, G.; BERMAN, C.; JAFFIN, R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol*, v. 57, n. 6, p. 370-377, 1986.

GOMES, B. P.; FERRAZ, C. C.; VIANNA, M. E.; BERBER, V. B.; TEIXEIRA, F. B.;

SOUZA-FILHO, F. J. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, v. 34, n. 6, p. 424-428, 2001.

GOMES, B. P.; VIANNA, M. E.; ZAIA, A. A.; ALMEIDA, J. F.; SOUZA-FILHO, F. J.; FERRAZ, C. C. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J*, v. 24, n. 2, p. 89-102, 2013.

GOMES, C.; FIDEL, S.; FIDEL, R.; SARQUIS, M.
I. Isolation and taxonomy of filamentous fungi in endodontic infections.. *J Endod*, v. 36, n. 4, p. 626-9, 2010.

GOMES, N.; SILVA, L. Efeito da condição de armazenamento sobre o pH e a concentração de cloro ativo de soluções de hipoclorito de cálcio. 2015. Dissertação (Mestrado em Odontologia/Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2015.

GOUD, S.; ARAVELLI, S.; DRONAMRAJU, S.; CHERUKURI, G.; MORISHETTY, P. Comparative Evaluation of the Antibacterial Efficacy of Aloe Vera, 3% Sodium Hypochlorite, and 2% Chlorhexidine Gluconate Against *Enterococcus faecalis*: An *In Vitro* Study. *Cureus*, v. 10, n. 10, p. 3480, 2018.

KHADEMI, A. A.; MOHAMMADI, Z.; HAVAEE, A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. *Aust Endod J*, v. 32, n. 3, p. 112-115, 2006.

LEONARDO, N. G.; CARLOTTO, I. B.; LUISI, S. B.; KOPPER, P. M.; GRECCA, F. S.; MONTAGNER, F. Calcium hypochlorite solutions: evaluation of surface tension and effect of different storage conditions and time periods over pH and available chlorine content. *J Endod*, v. 42, n. 4, p. 641–645, 2016.

LOE, H.; SCHIOTT, C. R. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodontal Res*, v. 5, n. 2, p. 79-83, 1970.

LOE, H.; SCHIOTT, C. R.; KARRING, G.; KARRING T. Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. *J Periodontal Res*, v. 11, n. 3, p. 135-144, 1976.

LOPES, H. P.; SIQUEIRA, J. F. JR. *Endodontia: biologia e técnica*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

O'DONNELL, L. E.; MILLHOUSE, E.; SHERRY, L.; KEAN, R.; MALCOLM, J.; NILE, C. J.; RAMAGE, G. Polymicrobial Candida biofilms: friends and foe in the oral cavity. *FEMS Yeast Research*, v. 15, n. 7, 2015.

OLIVEIRA, A. C. M. *Efetividade in vitro de substâncias químicas auxiliares e medicações intracanal sobre microrganismos e endotoxina em canais radiculares*.

2013. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 2013.

OLIVEIRA, J. S.; NETO, W. R.; FARIA, N. S.; FERNANDES, F. S.; MIRANDA, C. E. S.; RACHED-JUNIOR, F. J. A. Quantitative assessment of root canal roughness with calcium-based hypochlorite irrigants by 3D CLSM. *Braz Dent J*, v. 25, n. 5, p. 409-415, 2014.

SAMIEI, M.; TORAB, A.; HOSSEINI, O.; ABBASI, T.; ABDOLLAHI, A. A.; Divórcio, B. Antibacterial Effect of Two Nano Zinc Oxide Gel Preparations Compared to Calcium Hydroxide and Chlorhexidine Mixture. *Iran Endod J*, v.13, n. 3, p. 305-311, 2018.

SIDDIQUE, R.; SURESHBABU, N. M.; SOMASUNDARAM, J.; JACOB, B.; SELVAM, D. Qualitative and quantitative analysis of precipitate formation following interaction of chlorhexidine with sodium hypochlorite, neem, and tulsi. *J Conserv Dent*, v. 22, n. 1, p. 40-47, 2019.

SILVA. *Teste de Susceptibilidade Antimicrobiana*. In: Bacteriologia, um texto ilustrado. Teresópolis-RJ: Editora Eventos, 1999. Cap. 27, p. 387-423.

SIQUEIRA, J. F.; BATISTA, M. M. D.; FRAGA, R. C.; DE UZEDA, M. Antibacterial Effects of Endodontic Irrigants on Black- Pigmented Gram- Negative Anaerobes and Facultative Bacteria. *J Endod*, v. 24, n. 6, p. 414-6, 1998.

SOUZA, E. M.; CALIXTO, A. M.; LIMA, C. N.; PAPPEN, F. G.; DE-DEUS, G. Similar influence of stabilized alkaline and neutral sodium hypochlorite solutions on the fracture resistance of root canal-treated bovine teeth. *J Endod*, v. 40, n. 10, p. 1600–3, 2014.

SOUZA, M. A.; CECCHIN, D.; BARBIZAM, J. V. B.; ALMEIDA, J. F. A.; ZAIA, A. A.; GOMES, B. P.; FERRAZ, C. C. Evaluation of the colour change in enamel and dentine promoted by the interaction between 2% chlorhexidine and auxiliary chemical solutions. *Aust Endod J*, v. 39, n. 3, p. 107–111. 2013.

SOUZA, M. A.; MENON, C. Z.; NERY, L. F.; BERTOL, C. D.; ROSSATO-GRANDO, L. G.; CECCHIN, D. Effect of root canal preparation techniques on chlorhexidine substantivity on human dentin: a chemical analysis. *Clin Oral Invest*, v. 22, n.2, p. 856-865, 2018.

SOUZA, M. A.; MONTAGNER, A.; LANA.; D. L, VIDAL, C. M.; FARINA, A. P.; CECCHIN, D. Comparative evaluation of the retaining of QMix and chlorhexidine formulations on human dentin: a chemical analysis. *Clin Oral Investig*, v. 21, n. 3, p. 873–878, 2017.

SOUZA, M. A.; TUMELERO, D. C.; ZANDONÁ, J.; HOFFMANN, I. P.; MENCHIK, V. H. S.; PALHANO, H. S.; DE BERTOL, C. D.; ROSSATO-GRANDO, L. G.; CECCHIN, D.; DE FIGUEIREDO, J. A. P. Antimicrobial activity of hypochlorite solutions and reciprocating instrumentation associated with photodynamic therapy on

root canals infected with *Enterococcus faecalis* - An *in vitro* study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, p. 347-352, 2018.

STUART, C. H.; SCHWARTZ, S. A.; BEESON, T. J.; OWATZ, C. B. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod*, v. 32, n. 2, p. 93-98, 2006.

SWAIN, P. K.; NÁGARAL, S. C.; KAMALAPURKER, P. K.; DAMINENI, R. Promising role of calcium hypochlorite as disinfectant: an *in vitro* evaluation regarding its effect on type V dental stone. *J Contemp Dent Pract*, v. 13, n. 6, p. 856-66, 2012.

TANEJA, S.; MISHRA, N.; MALIK, S. Comparative evaluation of human pulp tissue dissolution by different concentrations of chlorine dioxide, calcium hypochlorite and sodium hypochlorite: An *in vitro* study. *J Conserv Dent*, v. 17, n. 6, p. 541-545, 2014.

VASUDEVA, A.; SINHA, D. J.; TYAGI, S. P.; SINGH, N. N.; GARG, P.; UPADHYAY, D. Disinfection of dentinal tubules with 2% Chlorhexidine gel, Calcium hydroxide and herbal intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis*: An *in-vitro* study. *Singapore Dent J*. v. 38, p. 39-44, 2017.

VIANNA, M. E.; GOMES, B. P. Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* *in vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. v. 107, n. 4, p. 585-9, 2009.

WALTIMO, T. M.; HAAPASALO, M.; ZEHNDER, M.; MEYER, J. Clinical aspects related to endodontic yeast infections. *Endod Topics*, v. 9, n. 1, p. 66-78, 2004.

WHITTAKER, H. A.; MOHLER, B. M. The sterilization of milk bottles with calcium hypochlorite. *Am. J. of Public. Health (NY)* v. 2, n. 4. p. 282-287, 1912.

WONG, D. T; CHEUNG, G. S. Extension of Bactericidal Effect of Sodium Hypochlorite into Dentinal Tubules. *J Endod*. v. 40, n. 6, p. 825-829, 2014.

ZEHNDER, M. Root canal irrigants. *J Endod*, v. 32, n. 5, p. 389-98, 2006.

Avaliação da efetividade antimicrobiana de diferentes agentes químicos na eliminação de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*.

*Evaluation of the antimicrobial efficacy of different chemical agents in the elimination of *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*.*

Alana Pontel*

Daniela Jorge Corralo**

RESUMO

O objetivo do presente estudo, foi avaliar a efetividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio e do hipoclorito de cálcio em diferentes concentrações (1%, 2,5%, 5,25%) comparando-as a clorexidina 2%, na eliminação de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. As culturas puras de *E. faecalis* e *C. albicans* foram obtidas no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UPF. Em capela de fluxo laminar, foram preparadas suspensões microbianas das duas culturas, sendo padronizadas ao tubo de número 10 da escala de MacFarland MacFarland (concentração de $3 \cdot 10^6$ células/mL). Após 0,5 mL de cada suspensão foram vertidas em placas de Petri com meio de cultura Mueller-Hinton (para *E. faecalis*) e de agar Saboraud (para *C. albicans*). Sobre as culturas foram colocados os discos de papel estéreis, onde foram aplicadas 20 uL das substâncias testes (hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio nas concentrações de 1%, 2,5% e 5,25% e da clorexidina 2%), separadamente, de acordo com a concentração e em duplicatas. As culturas foram incubadas por 48h a 37°C, em estufa bacteriológica. *E. faecalis* foi mais resistente a todos os produtos testados quando comparado a *C. albicans*. Nas concentrações de 1% e 2,5% o hipoclorito de cálcio mostrou superior ação antimicrobiana que o hipoclorito de sódio, mas inferior capacidade de eliminação deste micro-organismo comparada a clorexidina 2%. Na concentração de 5,25%, o hipoclorito de sódio foi mais efetivo frente aos micro-organismos testados. Concluiu que a clorexidina 2% foi o produto mais efetivo contra *E. faecalis*. Frente a *C. albicans* o hipoclorito de sódio a 5,25% teve mais efetividade, seguido de clorexidina a 2% e do hipoclorito de cálcio a 2,5%. Com exceção do hipoclorito de cálcio na concentração de 5,25%, este produto apresentou superior ação antimicrobiana nos micro-organismos testados comparado ao hipoclorito de sódio.

Palavras-chave: hipoclorito de cálcio; hipoclorito de sódio; ação antimicrobiana; *E. faecalis*; *C. albicans*

* Acadêmica de odontologia na Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo-RS, Brasil.

** Graduação em Odontologia pela Universidade de Passo Fundo (1997), Mestrado em Clínica Odontológica - Cariologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2003), Especialização em Odontologia em Saúde Coletiva pela Faculdade de Odontologia São Leopoldo Mandic (2007). Doutorado em Clínica Odontológica - Cariologia/Dentística pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2018). Docente (Adjunto II) na Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo desde 2003, nas áreas de Microbiologia, Saúde Coletiva e Orientação Profissional.

1. INTRODUÇÃO

As substâncias químicas utilizadas para a desinfecção do canal radicular não preenchem todos os requisitos necessários de uma substância ideal, como: eliminar *debris* dos canais, dissolver tecidos orgânicos remanescentes, desinfetar o espaço do canal e promover lubrificação durante a instrumentação sem causar irritação aos tecidos biológicos^{1,2,3}. As mais utilizadas hoje são o hipoclorito de sódio e a clorexidina. Entretanto, ambas apresentam algum tipo de limitação seja em relação a sua biocompatibilidade ou dissolução tecidual^{2,4}. O hipoclorito de sódio em diferentes concentrações quando extravasado pelo forame causa reações de citotoxicidade aos tecidos envolvidos^{2,5,6,7,8}. Já a clorexidina não possui a capacidade de dissolução de matéria orgânica^{1,2,4,6}.

Segundo dados da literatura, ainda não há uma substância química auxiliar de uso endodôntico que preencha todos os requisitos preconizados para uma substância química ideal^{2,3}. Visando suprir esta lacuna estudos estão sendo conduzidos em busca de uma substância que cumpra estes requisitos. Uma destas substâncias é o hipoclorito de cálcio. O hipoclorito de cálcio é um composto químico, na forma de pó branco, também conhecido como sais halogênios oxiácido, produzidos através da reação do calcário com o cloro, habitualmente usado na indústria, esterilização, branqueamento e purificação de tratamento de água^{7,8,9,10}. Esta solução apresenta qualidade antibacteriana contra *E. faecalis* dos canais radiculares^{10,11}, e tem potencial para dissolver tecidos em grau semelhante ao hipoclorito de sódio⁷. Além disso, é bastante alcalino e possuem cloro em sua composição o que é ligeiramente importante para uma solução irrigadora. Também pode ser estável durante 30 dias em temperatura ambiente, sendo assim de fácil acesso no consultório odontológico^{10,12}.

Os produtos utilizados atualmente para a limpeza e irrigação dos canais radiculares apresentam algumas limitações. O hipoclorito de sódio pode extravasar pelo forame causando reações de citotoxicidade aos tecidos envolvidos^{2,5,6,7,8}. Já a clorexidina não dissolve a matéria orgânica^{1,2,4,6}.

Portanto, torna-se justificável a realização de estudos que comparem e testem a capacidade de desinfecção de novas substâncias, sua qualidade e sua efetividade sobre micro-organismos.

2. MATERIAIS E METODOS

8.1. Delineamento do estudo

Este estudo foi realizado na Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, após a sua prévia autorização pela Direção do curso e do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade de Passo Fundo.

O experimento realizado foi um estudo *in vitro* desenvolvido no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade de Passo Fundo.

8.2. Desenho experimental

1. Etapa inicial

1.1 Preparo e semeadura dos micro-organismos

A bactéria e o fungo foram preparados no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo (ICB). O laboratório de pesquisa CEPA- Centro de Pesquisa em Alimentação da Universidade de Passo Fundo fez a manipulação prévia dos micro-organismos de acordo com protocolo específico.

Os procedimentos de semeadura, isolamento da bactéria e do fungo, foram realizados no interior de uma câmara de fluxo laminar previamente higienizada com álcool 70%, esterilizada com luz ultravioleta por um período de 30 minutos, e os instrumentos utilizados foram previamente esterilizados.

1.2. Preparo e incubação do micro-organismo

Foi feita a semeadura da bactéria e do fungo para a obtenção da cultura pura dos micro-organismos *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, em placas de Petri contendo Agar BH (Brain Heart) e Agar *Sabourad*, respectivamente. Estas foram incubadas por 48h em estufa bacteriológica, a 37 graus Celsius (figura 1)

Figura 1. Culturas de *E. faecalis* e *C. albicans* puras, semeadas em placas de Petri, após serem incubadas. Passo Fundo-RS, 20



1.3. Preparo das suspensões microbianas

Após a confirmação do seu crescimento, e que estavam puras, foi feito o repique dos micro-organismos para tubos de ensaio contendo água destilada estéril. Desta forma obteve-se duas suspensões, um referente a bactéria *Enterococcus faecalis* e, outra, do fungo *Candida albicans*.

As suspensões foram padronizadas ao tubo numero 10 da escala de MacFarland, correspondendo a uma concentração de $3 \cdot 10^6$ células/mL (SILVA, 1999) como mostrado na figura 2.

Figura 2. Imagem das suspensões de *C. albicans* e *E. faecalis* já padronizadas com o tubo número 10 da escala de MacFarland. Passo Fundo-RS, 2019.



1.4. Avaliação das substâncias pelo teste de sensibilidade antimicrobiana

Foram preparadas placas de Petri com meio de cultura ágar Muller Hinton (MH) e ágar Sabourad (AS). A suspensão microbiana de *E. faecalis* foi vertida sobre o meio de cultura MH (0,5ml) e espalhado pela superfície do meio de cultura com o auxílio de uma alça de Drigalski. O mesmo foi feito com a suspensão microbiana de *C. albicans* sobre o meio AS.

As substâncias desinfetantes testadas foram aplicadas com o auxílio de uma micropipeta graduada, sobre discos de papel estéreis previamente colocados sobre o meio de cultura (10-15 uL de cada substância teste). As substâncias foram testadas separadamente de acordo com a concentração, juntamente com os controles positivo e negativo (figura 1, A e B), para posterior avaliação do halo de inibição das substâncias. Os testes foram realizados em duplicata (figura 4).

Os grupos testados foram:

- G1: Na(OCl) 1%
- G2: Na(OCl) 2,5%
- G3: Na(OCl) 5,25%
- G4: Ca(OCl)₂ 1%
- G5: Ca(OCl)₂ 2,5%
- G6: Ca(OCl)₂ 5,25%

- G7: gel de clorexidina CHX 2% (controle positivo)
- G8: soro (controle-negativo)

Figura 3. Desenho esquemático das placas de cultura com os discos de papel, onde foram colocadas as soluções desinfetantes teste (G1; G2; G3; G4; G5; G6) e os controles positivo (G7) e negativo (G8). Em A: Hipoclorito de sódio nas concentrações de 1%, 2,5% e 5,25%; em B: Hipoclorito de cálcio nas concentrações de 1% , 2,5% e 5,25%. Os testes foram realizados em duplicatas. Passo Fundo-RS, 2019

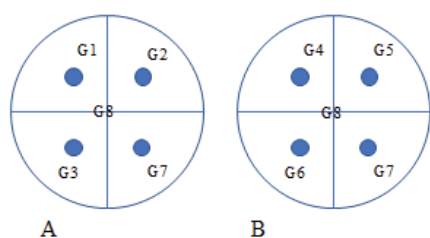
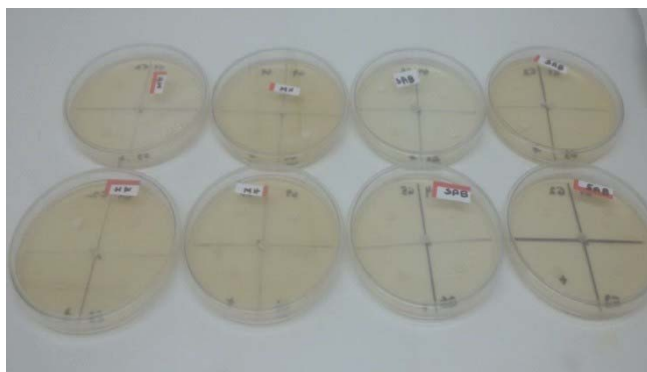


Figura 4. Imagem das placas de cultura já com os discos de papel e as substâncias desinfetantes em duplicatas. Passo Fundo-RS, 2019



1.5. Aferição do halo de inibição:

A avaliação do halo de inibição do crescimento microbiano (HICM) foi feita através do auxílio de uma régua plástica milimetrada. A media dos HICM formados nas culturas em duplicata foram medidas em milímetros.

Foram considerados como eficazes os produtos que apresentaram HICM igual ou superior a 13 mm de diâmetro. Halos com diâmetros entre 10 a 12,9 mm foram considerados como pouco eficazes. Diâmetros de HICM iguais ou maiores a 15 mm foram considerados muito eficazes no controle dos micro-organismos *E. faecalis* e *C. albicans*. Halos inferiores a 10 mm foram considerados ineficazes ou nulos.

RESULTADOS

Os resultados obtidos no experimento realizado *in vitro* podem ser observados na figura 5 e 6 e na tabela 1.

Figura 5 e 6. Placas de Petri com os halos de inibição do crescimento microbiano (HICM) com as substâncias testes (G1: Na(OCl) 1%; G2: Na(OCl) 2,5%; G3: Na(OCl) 5,25%; G4: Ca(OCl)₂ 1%; G5: Ca(OCl)₂ 2,5%; G6: Ca(OCl)₂ 5,25%; G7: CHX 2% gel (controle positivo); G8: água destilada estéril) e as culturas de *C. albicans* e *E. faecalis*, respectivamente, em duplicatas. Passo Fundo-RS, 2019

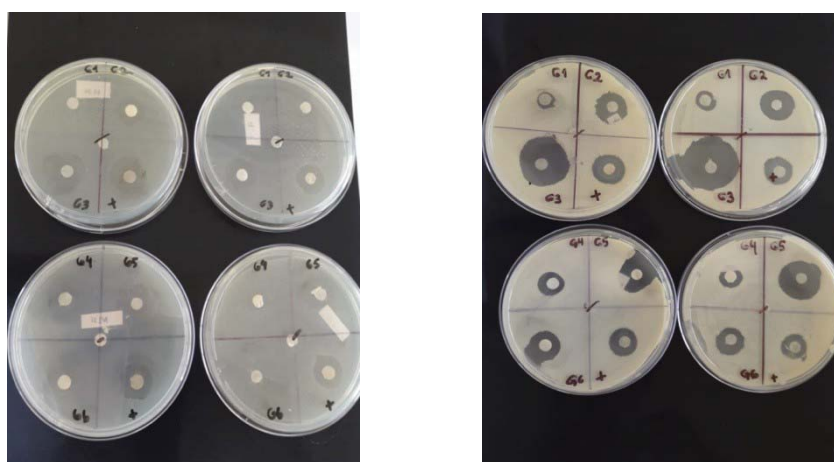


Tabela 1. Média dos halos de inibição do crescimento microbiano (HICM) observados para os produtos testados (G1: Na(OCl) 1%; G2: Na(OCl) 2,5%; G3: Na(OCl) 5,25%; G4: Ca(OCl)₂ 1%; G5: Ca(OCl)₂ 2,5%; G6: Ca(OCl)₂ 5,25%; G7: CHX 2% gel (controle positivo); G8: água destilada estéril) frente a culturas de *Enterococcus faecalis* e de *Candida albicans*. Passo Fundo, 2019.

Grupos	Média dos HICM em milímetros	
	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
G1	7	8,8
G2	10,8	13,9
G3	14,5	21,5
G4	8,3	13,8
G5	13,8	15,5
G6	9,8	12,8
G7 (positivo)	16,3	15,6
G8 (negativo)	0	0

O teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA) demonstrou que:

- *E. faecalis* mostrou ser mais resistente aos produtos testados nas diferentes concentrações quando comparado a *C. albicans*. O halo de inibição (HICM) máximo obtido frente a *E. faecalis* foi de 14,5 mm, sendo inferior ao halo obtido pelo controle positivo (clorexidina 2%) (figura 5, tabela 1).
- a ação antimicrobiana dos produtos testados foi superior em todos os grupos frente a *C. albicans*, obtendo um halo de inibição de crescimento de 21,5 mm no G3 (Na(OCl) 5,25%). E, com exceção do G1 (Na(OCl) 1%), todos os halos foram superiores a 12,8 mm (figura 6, tabela 1).
- os grupos G4 (Ca(OCl)₂ 1%) e G6 (Ca(OCl)₂ 5,25%) só foram eficientes contra o fungo *C. albicans* (figuras 6, tabela 1).
- o G3 (Na(OCl) 5,25%) teve maior ação antimicrobiana em relação aos dois micro-organismos testados. Sobre *E. faecalis* esse produto apresentou um potencial de ação moderado semelhante ao potencial do G5 (Ca(OCl)₂ 2,5%). Frente a *C. albicans* o G3 (Na(OCl) 5,25%) teve elevada ação antimicrobiana seguido do G5 (Ca(OCl)₂ 2,5%), G2 (Na(OCl) 2,5%) e G4 (Ca(OCl)₂ 1%), respectivamente (figuras 5 e 6, tabela 1).
- O G1 (Na(OCl) 1%) não foi eficiente contra os micro-organismos *E. faecalis* e *C. albicans* (figuras 5 e 6, tabela 1).
- O fungo *C. albicans* demonstrou ser mais sensível aos produtos testados do que *E. faecalis*, com exceção do produto G5 (Ca(OCl)₂ 2,5%) e da clorexidina a 2% (controle positivo) (figuras 5 e 6, tabela 1).

DISCUSSÃO

O presente estudo investigou a eficácia das substâncias químicas auxiliares (Ca(OCl)₂: hipoclorito de cálcio; NaOCl: hipoclorito de sódio; e, CHX: clorexidina)

utilizadas no preparo químico-mecânico dos canais radiculares, comparando a sua eficácia sobre os micro-organismos *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*.

As técnicas de instrumentação utilizadas no preparo químico mecânico do canal radicular, nem sempre eliminam todos os micro-organismos, principalmente os que se instalam nas irregularidades dos canais, sendo necessário que as substâncias químicas utilizadas sejam dotadas de atividades químicas e físicas que se qualifiquem para este fim. Porém, a eficácia das substâncias contra os micro-organismos endodônticos é crítica, pois nenhum preenche todos os requisitos necessários^{2,3,13}.

Recentemente, alguns estudos investigaram a atividade antimicrobiana de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ na odontologia. Este material mostrou resultados favoráveis na endodontia, como uma solução química auxiliar^{7,11}. Um estudo utilizando o hipoclorito de cálcio para desinfecção de garrafas de leite, obteve significativa desinfecção, comprovando que o hipoclorito de cálcio é uma boa substância na eliminação de bactérias⁹. Em outra investigação, descobriram que o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ teve melhor ação antibacteriana em comparação com NaOCl como irrigante de canal radicular após a agitação com energia ultrassônica¹¹. No presente estudo, três diferentes concentrações de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ foram testadas sobre *E. faecalis* e *C. albicans*, mostrando maior ação antimicrobiana frente a estes micro-organismos quando comparado ao NaOCl , nas mesmas concentrações, exceto na concentração de 5,25%; e, inferior a ação antimicrobiana da CHX a 2%.

O hipoclorito de sódio é uma substância que tem sido usada durante décadas na desinfecção contra as bactérias. Esta substância tem sido usada pela sua excelente ação como material solvente inorgânico e amplo espectro de ação antimicrobiana e também reduz a tensão superficial. Mas, ainda, possui alguns efeitos colaterais, como citotoxicidade, gosto e cheiro desagradável e pode produzir reações alérgicas no paciente, quando em altas concentrações sobre os tecidos^{3,5}. Em um estudo da literatura alguns autores avaliaram o efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio e outros irrigantes, observaram um significativo efeito comparado as demais substâncias¹⁴. No presente estudo, a solução de NaOCl a 5,25% mostrou ser mais efetiva na eliminação de *E. faecalis* e *C. albicans* (NaOCl 5,25% = 14,5 mm e 21,5 mm, respectivamente) do que o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ na mesma concentração ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5,25% = 9,8 mm e 12,8 mm, respectivamente).

Em um estudo realizado em 2015 observou-se que o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ possui ação

antimicrobiana similar ao NaOCl frente ao *E. faecalis* e que quanto maior a concentração do hipoclorito de cálcio maior a sua ação⁸. No presente estudo entretanto, observou-se que nas concentrações de 1% e 2,5%, o Ca(OCl)₂ foram superiores ao NaOCl.

A reduzida atividade antimicrobiana do Ca(OCl)₂ a 5,25% frente a *E. faecalis* e *C. albicans* não possui explicação na literatura atual. Os autores sugerem que possa ter ocorrido falha no processo de manipulação das soluções, embora as mesmas tenham sido obtidas em uma farmácia de manipulação conhecida no município de Passo Fundo-RS. Foi realizado um teste complementar (dados não mostrados) que confirmaram os resultados obtidos. Uma segunda possibilidade pode ser o fato de que o Ca(OCl)₂ em concentração de 2,5% já atinja o seu potencial máximo de inibição do crescimento desses micro-organismos.

Para fins endodônticos, a CHX pode ser usada em uma apresentação líquida ou em gel⁴. Estudos mostraram que a CHX gel 2%, possui vantagens em relação à solução de CHX a 2%. O gel CHX lubrifica as paredes do canal radicular, o que reduz o atrito entre o instrumental e a dentina, facilitando a instrumentação e diminuindo os riscos de quebra do instrumento dentro do canal. Além disso, melhora a eliminação de tecidos orgânicos, o que compensa sua incapacidade de dissolvê-los¹⁵. Em um estudo realizado recentemente para avaliar a desinfecção dos túbulos dentinários utilizando gel de CHX a 2%, mel, gel de aloe vera, curcuma longa, gel de própolis e hidróxido de cálcio contra *E. faecalis*, que o gel de CHX 2% foi mais eficaz¹⁶. Verificou-se, neste estudo, que *E. faecalis* é mais resistente aos produtos testados nas diferentes concentrações quando comparado a *C. albicans*. Foi observado também que o Ca(OCl)₂ e NaOCl possuem quase a mesma efetividade para a bactéria *E. faecalis* e contra a *C. albicans* nas concentrações de 1% e 2,5%. O NaOCl a 5,25% sobre a *C. albicans* teve uma maior efetividade.

No presente estudo a solução de CHX 2% foi utilizada como controle positivo e demonstrou a melhor ação antimicrobiana frente aos micro-organismos sendo inferior só ao NaOCl a 5,25% com relação a *C. albicans*.

CONCLUSÃO

Este estudo concluiu que a clorexidina a 2% foi o produto mais efetivo contra *E. faecalis*. Frente a *C. albicans*, o hipoclorito de sódio a 5,25% teve mais efetividade, seguido da clorexidina a 2% e do hipoclorito de cálcio a 2,5%. Com exceção do hipoclorito de cálcio na concentração de 5,25%, este produto apresentou superior ação antimicrobiana nos micro-organismos testados comparado ao hipoclorito de sódio.

REFERENCIAS:

1. [Gomes BP](#), [Ferraz CC](#), [Vianna ME](#), [Berber VB](#), [Teixeira FB](#), [Souza-Filho FJ](#). In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. [Int Endod J](#) 2001 Sep;34(6):424-8.
2. [Zehnder M](#). Root canal irrigants. [J Endod](#). 2006; 32(5):389-98.
3. Lopes HP, Siqueira Junior JF. Endodontia: biologia e técnica. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013.
4. Gomes BP, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JF, [Souza-Filho FJ](#), Ferraz CC. Chlorhexidine in endodontics. [Braz Dent J](#). 2013; 24(2):89-102.
5. Borin G, Becker AN, Oliveira EPM. A História do Hipoclorito de Sódio e a sua Importância como Substância Auxiliar no Preparo Químico Mecânico de Canais Radiculares. [Revista de Endodontia Pesquisa e Ensino On Line](#) 2007; 3(5):1-5.
6. Bonan RF, Batista AUD, Hussne RP. Comparação do Uso do Hipoclorito de Sódio e da Clorexidina como Solução Irrigadora no Tratamento Endodôntico: Revisão de Literatura. [Rev Bras Ciên Saúde](#) 2011; 15(2):237-244.
7. Dutta A, Saunders WP. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. [J Endod](#) 2012; 38(10):1395-1398.
8. Gomes N, Silva L. Efeito da condição de armazenamento sobre o pH e a concentração de cloro ativo de soluções de hipoclorito de cálcio. 2015. Dissertação (Mestrado em Odontologia/Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2015.
9. Whittaker HA, Mohler BM. The sterilization of milk bottles with calcium

- hypochlorite. Am. J. of Public. Health (NY) 1912; 2(4):282-287.
10. Cecchin D, Giaretta VS, Cadorin BG, Souza MA, Vidal CMP, Farina AP. Effect of synthetic and natural-derived novel endodontic irrigant solutions on mechanical properties of human dentin. *J Mater Sci: Mater Med* 2017; 28(9):141.
 11. [de Almeida AP](#), [Souza MA](#), [Miyagaki DC](#), [Dal Bello Y](#), [Cecchin D](#), [Farina AP](#). Comparative Evaluation of Calcium Hypochlorite and Sodium Hypochlorite Associated with Passive Ultrasonic Irrigation on Antimicrobial Activity of a Root Canal System Infected with *Enterococcus Faecalis*: An *In Vitro* study. *J Endod*. 2014 Dec;40(12):1953-7.
 12. [Leonardo NG](#), [Carlotto IB](#), [Luisi SB](#), [Kopper PM](#), [Grecca FS](#), [Montagner F](#). Calcium hypochlorite solutions: evaluation of surface tension and effect of different storage conditions and time periods over pH and available chlorine content. *J Endod*. 2016 Apr;42(4):641-5.
 13. Ferreira COM. Ação Antimicrobiana de Diferentes Medicamentos Intracanalais Contra Isoladas Endodônticas de *Enterococcus Faecalis*. 2010. Dissertação (Mestrado em Odontologia/Endodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro. 2010.
 14. [Siqueira JF Jr](#), [Batista MM](#), [Fraga RC](#), [de Uzeda M](#). Antibacterial Effects of Endodontic Irrigants on Black- Pigmented Gram- Negative Anaerobes and Facultative Bacteria. *J Endod*. 1998 Jun;24(6):414-6.
 15. [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 Jul;27(7):452-5.
 16. Vasudeva A, de Sinha DJ, Tyagi SP, Singh NN, Garg P, Upadhyay D. Disinfection of dentinal tubules with 2% Chlorhexidine gel, Calcium hydroxide and herbal intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis*: An in-vitro study. *Singapore Dent J*. 2017; 39-44.

Endereço para correspondência:

Alana Pontel

Avenida Brasil Oeste, 27.

CEP:99010-660, Passo Fundo-RS, Brasil.

Telefone: (54) 984490359

Email: pontelalana@gmail.com