Avaliação Antimicrobiana de Cones de Guta-Percha Associados ao Hidróxido de Cálcio ou Clorexidina

Antimicrobial evaluation of gutta-percha points associated to calcium hydroxide or chlorhexidine

Daniel A. DECURCIO[1], Mariana B. CROSARA[2], Julio A. SILVA[1], Lilian F. G. AMORIM[3], Cyntia R. A. ESTRELA[4]

1. Pós-Graduando (doutorado) em Ciências da Saúde pela FM-UFG.
2. Pós-Graduanda (mestrado) em Clínicas Odontológicas pela FO-UFG.
3. Professora de Odontopediatria da FO/UFG.
4. Doutora em Biologia Celular e Molecular pelo ICB/UFG.

RESUMO

Os microrganismos presentes no interior dos canais radiculares são os grandes responsáveis pelos insucessos endodônticos. Desta forma, a terapêutica endodôntica procura controlar estes microrganismos. Sendo assim, materiais obturadores deveriam ter não só as propriedades de adesão e biocompatibilidade, como também ação antimicrobiana. No presente estudo, avaliou-se a atividade antimicrobiana de cones de guta-percha utilizados na obturação dos canais radiculares contendo hidróxido de cálcio ou clorexidina. Os indicadores microbianos utilizados foram: *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e *Candida albicans* (ATCC 10231). A atividade antimicrobiana foi avaliada por meio do teste por contato direto. Os cones testes foram imersos em 10 mL de suspensão microbiana, individualmente durante 30 minutos, com vistas ao processo de contaminação. Decorrido este período, os cones foram imersos por 5 minutos em solução salina, e transportados para 10 mL de meio de cultura *Letheen Broth*. Na seqüência, o material foi incubado a 37°C por 48 horas, em estufa bacteriológica, e avaliou-se a presença ou ausência de turvação do meio de cultura. A seguir, removeu-se 0,1 mL do meio de cultura e inoculou-se em 10 mL de *Brain Heart Infusion* em idênticos períodos e condições de incubação. Os resultados mostraram que apenas os cones de guta-percha contendo clorexidina apresentaram atividade antimicrobiana sobre os microrganismos estudados.

PALAVRAS-CHAVE: Obturação do canal radicular, cones de guta-percha, atividade antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

O sucesso da terapia endodôntica está intimamente relacionado ao controle e eliminação de microrganismos presentes no interior dos canais radiculares. A utilização de uma solução irrigadora capaz de controlar esses microrganismos, associada a uma medicação intracanal com alto poder antimicrobiano, torna-se fundamental durante o tratamento de dentes portadores de infecção endodôntica[1].

Entretanto, muitas vezes esses microrganismos não são eliminados durante o preparo do canal radicular, seja pela complexa anatomia interna, ou por mecanismos de defesa do próprio microrganismo[2]. Desta forma, recai sobre o material obturador, não apenas vedar de forma efetiva o sistema de canais radiculares, mas também ter a capacidade antimicrobiana. Assim, diversas substâncias têm sido estudadas em associação ao material obturador[3-6].

O hidróxido de cálcio é a medicação de uso endodôntico com maior comprovação científica, e a mais utilizada atualmente. Esta medicação destaca-se não só pela sua capacidade antimicrobiana[7], mas também pela sua atividade mineralizadora, baseada em sua dissociação em íons cálcio e hidroxila[8]. Vários estudos demonstraram a formação de barreiras mineralizadas em nível pulpar e periapical quando da utilização do hidróxido de cálcio[1,8].

Outra medicação de uso intracanal com atividade antimicrobiana é a clorexidina. Alguns autores destacam sua utilização na eliminação de microrganismos presentes no sistema de canais radiculares[9,10]. Entretanto, outros estudos têm demonstrado que sua utilização deve ser feita com cautela, devido à sua capacidade de alterar os tecidos periapicais[11,12].

Assim, surgiu no mercado cones de guta-percha contendo tanto o hidróxido de cálcio quanto a clorexidina, buscando uma associação das propriedades antimicrobianas e biológicas destas substâncias ao material obturador. Desta forma, foi objetivo do presente estudo avaliar a capacidade antimicrobiana de cones de guta-percha associados ao hidróxido de cálcio e à clorexidina, sobre o *Enterococcus faecalis* e a *Candida albicans*.

MATERIAL E MÉTODO

Neste estudo foram utilizados microrganismos provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC), o *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e a *Candida albicans* (ATCC 10231). Os microrganismos foram cultivados em meio de cultura *Brain Heart Infusion agar* (BHIa, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), previamente distribuído em tubos de ensaio e esterilizado a 121°C, durante 20 minutos. Decorridas 24 horas de incubação, à temperatura de 37°C e em condições respiratórias adequadas aos microrga-

nismos indicadores, células microbianas foram suspensas em solução fisiológica a 0,5% (Halex Istar, Goiânia, GO, Brasil) esterilizadas. A suspensão teste foi ajustada, com auxílio do mesmo diluente, ao tubo número 1 da escala de MacFarland, na concentração aproximada de 3 X 10^8 células por mL.

Os materiais analisados para o teste por contato direto foram cones de guta-percha associada ao hidróxido de cálcio (Calcium Hydroxide Plus Points, ROEKO, Langenau, Germany), guta-percha associada à clorexidina (Activ Points, ROEKO) e guta-percha tradicional (Tanari, Tanariman Indústria, Ltda., Manacaru, AM, Brazil). Todos os cones testados eram de tamanho padronizado, ISO nº 40.

Objetivando a determinação da ação antimicrobiana, os cones de guta-percha foram imersos na suspensão microbiana, durante 30 minutos, buscando o processo de contaminação. Decorrido esse período, os mesmos foram distribuídos em placas de Petri contendo 10 mL de solução fisiológica esterilizada, a fim de se remover o excesso da solução microbiana.

Após 5 minutos de imersão em solução fisiológica, os cones foram removidos e transportados, individualmente, para 10 mL de meio de cultura *Letheen Broth* (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) acrescido dos inibidores Tiossulfato de Sódio P.A. (Art Laboratories, Campinas, SP, Brasil) e Tween 80 (Vetec Química Final Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), ambos nas concentrações de 1%.

Na seqüência, o material foi incubado a 37°C por 48 horas, em ambiente favorável às exigências respiratórias do microrganismo indicador e, então, analisado macroscopicamente quanto à presença ou ausência de turvação, indicativa, ou não, de crescimento de microrganismos.

Foi utilizado como controle negativo 7,0 mL de *Letheen Broth*, enquanto que para o controle positivo utilizou-se o inócuo de 0,1 mL dos microrganismos em 7,0 mL de *Letheen Broth*, para se analisar se os microrganismos utilizados no experimento estavam, ou não, viáveis.

Todos os tubos foram selecionados para a confirmação dos resultados macroscópicos. Assim, inóculo de 0,1 mL, obtido a partir do *Letheen Broth*, foi transferido para 5 mL de BHI, procedendo-se às mesmas condições de incubação. A leitura final foi, também, macroscópica e, em caso de dúvida, complementada pela observação microscópica, tendo como parâmetro a coloração de Gram.

Em todas as etapas experimentais, sem exceção, a técnica asséptica foi valorizada, os ensaios foram conduzidos segundo a recomendação de duplo cego e os testes foram efetuados em triplicata.

RESULTADOS

Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 1. Os dados demonstram atividade antimicrobiana sobre os microrganismos testados apenas pelos cones de guta-percha associados à clorexidina.

Tabela 1. Efeito antimicrobiano de diferentes cones de guta-percha por contato direto.

	E. faecalis	*C. albicans*
CHC	+ + +	+ + +
CCLX	- - -	- - -
CGP	+ + +	+ + +
C-	- - -	- - -
C+	+ + +	+ + +

CHC – cone associado ao hidróxido de cálcio
CCLX – cone associado à clorexidina
CGP – cone de guta-percha tradicional
C- - controle negativo
C+ - controle positivo

DISCUSSÃO

A eliminação de microrganismos do interior de canais radiculares infectados torna-se fundamental para o sucesso do tratamento endodôntico. Assim, buscam-se novos materiais que apresentem não só biocompatibilidade, mas que também tenham capacidade antimicrobiana frente aos microrganismos presentes nos canais radiculares. Desta forma, surgiram no mercado cones de guta-percha associados a duas medicações de conhecido efeito antimicrobiano, o hidróxido de cálcio e a clorexidina, avaliados neste estudo pelo teste por contato direto.

O presente estudo demonstra uma atividade antimicrobiana apenas pelos cones de guta-percha associados à clorexidina frente aos microrganismos estudados. Os cones de guta-percha associados ao hidróxido de cálcio e os cones tradicionais não apresentaram nenhuma atividade antimicrobiana. Estes resultados estão de acordo com outros estudos da literatura. Ebert *et al*.[6] (2008) avaliaram a ação destes materiais em canais simulados, contaminados com *E. faecalis.* Apenas o grupo dos cones de guta-percha associados à clorexidina foi eficaz frente ao microrganismo estudado. Resultados semelhantes foram observados em testes por difusão em ágar[13].

No entanto, quando foi avaliada a atividade antimicrobiana destes materiais em dentina contaminada, outros resultados foram observados. Barthel *et al*.[14] (2002) compararam a atividade antimicrobiana de cones de guta-percha associados ao hidróxido de cálcio ou clorexidina à pasta de hidróxido de cálcio ou gel de clorexidina. Os autores contaminaram 70 canais radiculares de dentes unirradiculares extraídos e avaliaram a ação destes materiais por uma semana. Apenas a pasta de hidróxido de cálcio e o gel de clorexidina foram eficazes na eliminação dos microrganismos. Lui *et al*.[15] (2004) encontraram resultados semelhantes frente à dentes contaminados por *E. faecalis*.

O potencial antimicrobiano do hidróxido de cálcio está intimamente relacionado à sua capacidade de dissociação iônica. Desta forma, o elevado pH proporcionado pelo hidróxido de cálcio reflete diretamente na sobrevivência de microrganismos presentes no meio[8,16,17]. Entretanto, alguns autores[18-20] observaram um

rápido decréscimo na alcalinidade do meio quando utilizados os cones de guta-percha associados a esta medicação, causa provável da ineficácia antimicrobiana deste material.

A clorexidina é uma medicação de conhecido efeito antimicrobiano, utilizada como medicação intracanal por diversos autores[9,10]. No entanto, alguns estudos têm alertado sobre sua capacidade citotóxica. Szep *et al*.[12] (2003) avaliaram a citotoxicidade de cones de guta-percha tradicionais e associados à clorexidina ou hidróxido de cálcio, sendo que aqueles contendo clorexidina apresentaram citotoxicidade superior aos demais grupos. Barbin *et al*.[11] (2008) observaram a presença de subprodutos com capacidade carcinogênica associados ao uso da clorexidina. Desta forma, os riscos e benefícios no uso de uma medicação com tais propriedades devem ser avaliados de forma cautelosa.

O presente estudo representa apenas um estudo inicial, realizado *in vitro*. Toda extrapolação de resultados obtidos a partir de estudos *in vitro* para a prática clínica deve ser feita de forma cuidadosa, uma vez que outras variáveis não foram estudadas. Assim, torna-se necessário associar dados de estudos biológicos iniciais e outras metodologias laboratoriais para se utilizar estes materiais em estudos experimentais em humanos, e a partir daí se buscar uma aplicação clínica dos mesmos.

CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que apenas os cones de guta-percha contendo clorexidina apresentaram atividade antimicrobiana sobre os microrganismos estudados.

REFERÊNCIAS

01. Holland R, Otoboni Filho JA, Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE , Dezan Jr E. A Comparison of One Versus Two Appointment Endodontic Therapy in Dogs' Teeth with Apical Periodontitis. J Endod 2003; 29:121-24.
02. Love RM. *Enterococcus faecalis* - a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J 2001; 34:399-405.
03. Holland R, Murata SS, Barbosa HG, Garlipp O, Souza V, Dezan Jr E. Apical Seal of Root Canals with Gutta-Percha Points with Calcium Hydroxide. Braz Dent J 2004; 15:26-9.
04. Holland R, Murata SS, Dezan Jr E, Garlipp O. Apical Leakage after Root Canal Filling with an Experimental Calcium Hydroxide Gutta-Percha Point. J Endod 1996; 22:71-3.
05. Öztan MD, Kiyan M, Gerçeker D. Antimicrobial effect, in vitro, of gutta-percha points containing root canal medications against yeasts and *Enterococcus faecalis.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006; 102:410-6.
06. Ebert J, Roggendorf MJ, Frank K, Petschelt A. Antimicrobial activity of various 'active' gutta-percha points against *Enterococcus faecalis* in simulated root canals. Int Endod J 2008; 41:249–57.
07. Estrela C, Estrela CRA, Bammann LL, Pecora JD. Two Methods to Evaluate the Antimicrobial Action of Calcium Hydroxide Paste. J Endod 2001; 27:720-3.
08. Estrela C, Holland R. Calcium hydroxide: study based on scientific evidences. J Appl Oral Science 2003; 11:269-82.
09. Gomes BPFA, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrigui L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. Int Endod J 2003; 36:267-75.
10. Souza-Filho FJ, Soares AJ, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CCR, Gomes BPFA. Antimicrobial Effect and pH of Chlorhexidine Gel and Calcium Hydroxide Alone and Associated with other Materials. Braz Dent J 2008; 19:28-33.
11. Barbin LE, Saquy PC, Guedes DFC, Sousa-Neto MD, Estrela C, Pécora JD. Determination of para-Chloroaniline and Reactive Oxygen Species in Chlorhexidine and Chlorhexidine Associated with Calcium Hydroxide. J Endod 2008; 34:1508-14.
12. Szep S, Grumann L, Ronge K, Schriever A, Schultze M, Heidemann D. In Vitro Cytotoxicity of Medicated and Nonmedicated Gutta-percha Points in Cultures of Gingival Fibroblasts. J Endod 2003; 29:36-40.
13. Tanomaru JMG, Pappen FG, Tanomaru Filho M, Spolidorio DMP, Ito IY. *In vitro* antimicrobial activity of different gutta-percha points and calcium hydroxide pastes. Braz Oral Res 2007; 21:35-9.
14. Barthel CR, Zimmer S, Zilliges S, Schiller R, Göbel UB, Roulet JF. In Situ Antimicrobial Effectiveness of Chlorhexidine and Calcium Hydroxide: Gel and Paste Versus Gutta-Percha Points. J Endod 2002; 28:427-30.
15. Lui JN, Sae-Lim V, Song KP, Chen NN. In vitro antimicrobial effect of chlorhexidine-impregnated gutta percha points on *Enterococcus faecalis.* Int Endod J 2004; 37:105-13.
16. Estrela C, Pimenta FC, Ito IY, Bamman LL. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. J Endod 1998; 24:15–7.
17. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe 0 Jr. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. Brazil Dent J 1995; 6:85-90.
18. Han Ho C, Khoo A, Tan R, The J, Chong Lim K, Sae-Lim S. pH Changes in Root Dentin after Intracanal Placement of Improved Calcium Hydroxide Containing Gutta-percha Points. J Endod 2003; 29:4-8.
19. Azabal-Arroyo M, Menasalvas-Ruiz G, Martın-Alonso J, Arroquia JJH, Vega-del Barrio JM. Loss of Hydroxyl Ions from Gutta-Percha Points with Calcium Hydroxide in Their Composition: An In Vivo Study. J Endod 2002; 28:697-8.
20. Economides N, Koulaouzidou EA, Beltes P, Kortsaris AH. In Vitro Release of Hydroxyl Ions from Calcium Hydroxide Gutta-Percha Points. J Endod 1999; 25:481-2.

ABSTRACT

The microorganisms present in the root canals are the main responsible for endodontic failures. Thus, endodontic therapy seeks to control these microorganisms. Thus, filling materials should have not only the adhesion properties and biocompatibility, as well as antimicrobial. In this study, we evaluated the antimicrobial activity of gutta-percha used in the filling of root canals containing calcium hydroxide or chlorhexidine. The microbial indicators used were: *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) and *Candida albicans* (ATCC 10231). Antimicrobial activity was evaluated using the test by direct contact. The test cones were immersed in 10 mL of microbial suspension, individually for 30 minutes, with a view to the process of contamination. After this

period, the cones were immersed for 5 minutes in saline, and transported to 10 ml of culture medium Letheen Broth. Subsequently, the material was incubated at 37ºC for 48 hours in a bacteriological incubator, and evaluated the presence or absence of turbidity of the culture. Next, we removed 0.1 mL of culture medium and inoculated in 10 mL of Brain Heart Infusion at the same time and incubation conditions. The results showed that only the gutta-percha points containing chlorhexidine presented antimicrobial activity on the microorganisms studied.

KEYWORDS: Root canal filling, gutta-percha points, antimicrobial activity.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Profª Drª Cyntia R. A. Estrela
Centro de Ensino e Pesquisa Odontológica do Brasil
(CEPOBRAS)
Rua C-245, Quadra 546, Lote 9, Jardim América
Goiânia, GO, CEP: 74.290-200, Brasil
e-mail: estrela3@terra.com.br