

Análise Comparativa do Potencial Antimicrobiano de Três Medicamentos Utilizadas no Canal Radicular

Comparative Analysis of Antimicrobial Potential of Three Root Canal Dressings

Roberta Lamping*
Lilian Eiko Maekawa**
Maria Renata Giazzi Nassri***
Sérgio de Oliveira****

Lamping R, Maekawa LE, Nassri MRG, Oliveira S de. Análise comparativa do potencial antimicrobiano de três medicamentos utilizadas no canal radicular. J Bras Endod 2005; 5(20):376-80.

O objetivo do presente estudo foi analisar o potencial antimicrobiano das medicações NDP, Pred-Fort associado a rifamicina e Otosporin quando em contato com bactéria comumente encontrada no interior do canal radicular, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), em meio de cultura sólido Mueller Hinton. A infusão bacteriana foi preparada utilizando meio TSB, correspondente à escala 0,5 de McFarland. Foram utilizadas Placas de Petri, já esterilizadas, para acomodação de duas camadas de meio de cultura. Na base foram colocados 10 mL de Mueller Hinton e esperou-se solidificar. A segunda camada, também de 10 mL, foi preparada utilizando infusão bacteriana, diluída em 1×10^6 em meio de cultura TSB e 5 mL de meio sólido, resultando na concentração de 15×10^5 UFC/mL, que foi colocada sobre a base. Feito isto, foram acomodados discos de papel previamente embebidos nas medicações testadas nesta pesquisa sobre o meio. As placas foram acondicionadas em estufa durante 24 h, a uma temperatura de 36°C, para análise dos resultados. Essa análise foi definida a partir da mensuração do halo de inibição, em milímetros, causado pelas medicações, cujos valores foram submetidos à análise estatística. Segundo os resultados, houve formação de maiores halos de inibição quando da utilização, em ordem decrescente, do Pred-Fort + Rifamicina, do Otosporin e, finalmente, do NDP.

PALAVRAS-CHAVE: Endodontia; Microorganismo; Medicação intra-canal.

INTRODUÇÃO

O desconhecimento da biologia regional, a presença da contaminação microbiana no interior do sistema endodôntico, o arsenal inadequado e a permanência de sinais e sintomas por tempo prolongado fizeram da medicação intra-canal um importante auxiliar na busca do êxito no tratamento endodôntico.

O conhecimento mais aprofundado sobre a microbiologia endodôntica é um recurso fundamental para entender o papel das bactérias na origem e desenvolvimento dos processos patológicos, bem como oferecer subsídios para a instituição de uma terapêutica adequada (Luisi, 1999). O momento atual está marcado pela identificação de componentes microbianos e produtos metabólicos que possam estimular

* Estagiária da Disciplina de Endodontia do Curso de Odontologia da Universidade de Mogi das Cruzes; Rua Marcondes Buarque, 99, Jaçanã – 02259-160, São Paulo, SP; e-mail: robertalamping@hotmail.com

** Estagiária da Disciplina de Endodontia do Curso de Odontologia da Universidade de Mogi das Cruzes; Rua Evolução, 692, Vila Brasilina – 04163-001, São Paulo, SP; e-mail: lilian.maekawa@uol.com.br

*** Professora Doutora das Disciplinas de Endodontia e Clínica Odontológica Integrada do Curso de Odontologia da Universidade de Mogi das Cruzes; Rua Adelino Torquato, 107, Centro – 08780-300, Mogi das Cruzes, SP; e-mail: renassri@zipmail.com.br

**** Professor Mestre da Disciplina de Endodontia do Curso de Odontologia da Universidade de Mogi das Cruzes; Rua Ribeiro de Barros, 187 /72, Vila Pompéia – 05027-020, São Paulo, SP; e-mail: fernanvi@ig.com.br

a resposta imune humoral e específica e a imunopatogênese dos processos pulpares e periapicais (Lage Marques, Antoniazzi, 2000).

Os processos infecciosos são considerados de caráter polimicrobiano, e esses microorganismos têm sido identificados com resultados variáveis de acordo com diferentes pesquisas. Um estudo comprovou que em aproximadamente 7 dias após a instalação da infecção, cerca de 50% da flora bacteriana é composta por anaeróbios e após 6 meses há um predomínio acentuado desses anaeróbios estritos, constituindo mais de 90% dos microorganismos isolados (Fabricius *et al.*, 1982).

Um estudo bacteriológico no interior de lesões periapicais do tipo crônica, isolou bactérias anaeróbias. Dentro das amostras positivas (60%) os anaeróbios estiveram associados com bactérias facultativas, dentre elas: *Streptococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus* (Oliveira *et al.*, 1994).

Os objetivos almejados, com relação à função da medicação intracanal, perseguem a modulação da resposta inflamatória e o controle do processo infeccioso. Muitas pesquisas têm testado o potencial antimicrobiano e antiinflamatório de substâncias utilizadas no tratamento endodôntico. Assim novas hipóteses experimentais e aprimorados métodos técnico-científicos de pesquisa buscam adequar a medicação, obtendo a cada dia, resultados mais próximos da realidade impondo à fase trans-operatória conduta mais confiável.

Foram realizados vários estudos *in vitro*, como esse, analisando as ações antimicrobianas sobre as bactérias presentes nas infecções endodônticas de uma série de substâncias utilizadas como medicação intra-canal. O hidróxido de cálcio foi analisado em suas diferentes formas, proporções e associações (Lage Marques *et al.*, 1992; Siqueira Jr. *et al.*, 1996), outros medicamentos como formocresol e paramonoclorofenol canforado também foram estudados (Brilliant *et al.*, 1974).

A literatura odontológica comporta trabalhos sobre corticosteróides com metodologia bastante diferentes. Um estudo histológico no campo da morfologia do processo cicatricial usou corticosteróides, na mesma concentração, sobre ferida cirúrgica na pele de ratos e decorridos os prazos experimentais

os autores concluíram que das substâncias experimentadas, a hidrocortisona e a prednisolona não alteravam o mecanismo cicatricial. A triancinolona, todavia, provocava um retardo na reparação (Rezende, Paiva, 1976).

Brilliant *et al.*, em 1974, estudaram cinco medicações intra-canal de acordo com suas habilidades de inibição de crescimento bacteriano em placas de petri. O formocresol, cresatina, fenol e paramonoclorofenol canforado, nessa ordem inibiram o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus faecalis*. Já o grupo do eugenol inibiu apenas o crescimento de *Staphylococcus aureus*. Essas medicações também foram testadas em condições de simulação clínica utilizando dentes extraídos. Os resultados mostraram que todas as medicações exibiram atividade antibacteriana quando em contato direto com o *Staphylococcus aureus* e apenas o formocresol foi completamente efetivo sobre os dois microorganismos testados.

Tendo em vista a preocupação dos profissionais em escolher medicações que possuam um potencial antimicrobiano endodonticamente satisfatório, esta pesquisa foi desenvolvida para comparar a ação antimicrobiana de três medicações de uso intra-canal, Pred-Fort + Rifocina, Otosporin e NDP, sobre o *Staphylococcus aureus*, bactéria anaeróbia facultativa, em meio de cultura sólido, no intuito de determinar uma substância que possa ser usada com eficácia nos casos de contaminação do canal radicular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Linhagem microbiana e cultivo

Para esta pesquisa foi utilizada a bactéria anaeróbia facultativa *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), e a infusão bacteriana foi preparada em meio de cultura TSB, de acordo com a turvação 0,5 da Escala de McFarland.

Grupos experimentais:

1. NDP - formulação: 2 g de paramonoclorofenol, 0,32 g de fosfato de dexametasona e polietileno glicol + rinossoro 400 ãã (partes iguais) qsp 100 mL; (Feller. Antoniazzi, 1981)
2. Pred Fort + Rifocina – formulação: acetato de prednisolona e rifamicina;

3. Otopsporin – formulação: hidrocortisona, sulfato de neomicina e sulfato de polimixina B;
4. Controle negativo - soro fisiológico estéril.

Procedimento experimental

Foram preparados 200 mL de meio de cultura sólido Müeller Hinton em uma mistura de 6,60 g de pó para 200 mL de água destilada (de acordo com o fabricante). O meio foi colocado em um balão volumétrico e autoclavado por 15 minutos. Em cada uma das placas de Petri, previamente autoclavadas por 15 minutos, foram transportados 10 mL do meio e esperada sua solidificação. A infusão bacteriana preparada foi diluída a 1×10^6 , para 4,95 mL de meio TSB, proporcionalmente para 0,05 mL de TSB, dando uma concentração final de 15×10^5 UFC/mL. Essa infusão da bactéria acrescida de 5 ml de Müeller Hinton foi colocada sobre o meio, já solidificado, na placa.

Sobre a segunda camada de meio de cultura e bactéria inoculada, solidificado, foram colocados discos de papel de 5 mm de diâmetro previamente embebidos nas substâncias utilizadas neste estudo: NDP, Pred fort + Rifocina, na proporção de 1:2, Otopsporin e soro fisiológico (controle negativo). Todos os procedimentos experimentais foram realizados em duplicata. As placas foram armazenadas em estufa durante 24 horas, em temperatura de 36°C, para leitura dos resultados e análise estatística.

RESULTADOS

As placas foram retiradas da estufa, para mensuração dos halos de inibição, por meio de régua flexível. Nas placas de controle negativo, onde foram colocados os discos embebidos em soro fisiológico estéril, houve crescimento total bacteriano. Nas demais placas, onde foram testadas as diferentes medicações, foram observados halos de inibição com variações de diâmetros consideráveis, das quais pôde-se obter média em milímetros, individualmente. A média dos maiores halos foi encontrada na placa que havia os discos embebidos em Pred fort + Rifocina, seguida das placas contendo Otopsporin e NDP, como mostra a tabela 1.

TABELA 1: Valores, em milímetros, dos halos de inibição provocados pelas medicações.

PLACA	NDP	OTOSPORIN	PRED FORT	SORO
DISCOS				
	11	21	27	CB
	13	22	28	CB
	10	20	30	CB
	12	21	24	CB
MÉDIAS	11,5	21,7	27,5	CB

CB – Crescimento Bacteriano

A análise estatística mostrou segundo os testes preliminares uma distribuição amostral não normal. O teste de Kruskal-Wallis ($\alpha = 1\%$) revelou diferença significativa de 0,1% entre todas as medicações testadas, NDP (média: 11,5), Otopsporin (média: 21,7) e Pred-Fort + Rifocina (média: 27,5).

DISCUSSÃO

Os novos conhecimentos científicos nos quais se baseia a Endodontia moderna, principalmente no que tange a microbiota infectante de um canal radicular, têm gerado a necessidade de se reavaliar a utilidade de uma medicação intracanal visando maximizar a desinfecção do sistema de canais radiculares e, assim, elevar o índice de sucesso da terapia endodôntica em casos de necropulpectomia (Siqueira Jr. *et al.*, 1996; Lage Marques, Antoniazzi, 2000; Gurney *et al.*, 1974; Oliveira *et al.*, 1994).

Vários estudos *in vitro* são encontrados na literatura odontológica analisando as ações antimicrobianas de substâncias utilizadas como medicação intracanal sobre bactérias presentes nas infecções endodônticas. Medicamentos como formocresol, cresatina, fenol, paramonoclorofenol canforado e eugenol foram estudados e foi verificado que todos apresentam atividade antimicrobiana quando em contato direto com o *Staphylococcus aureus* (Brilliant *et al.*, 1974).

O estudo *in vitro* com placas de Petri foi designado para teste do efeito inibitório das medicações escolhidas, NDP, Pred-fort + Rifocina e Otopsporin, sobre microorganismo freqüentemente encontrado em canal radicular, *Staphylococcus aureus*.

Esse microorganismo, sendo um aeróbio Gram positivo, embora esteja presente no sistema de

canais radiculares de dentes com reação periapical crônica em menor porcentagem do que os anaeróbios estritos, em torno, de 10 a 20%, vive em cadeia alimentar interdependente com esses microorganismos (Leonardo *et al.*, 1999).

Em trabalhos como o de Siqueira & Uzeda (1997) e de Siqueira *et al.* (1997) o *Staphylococcus aureus* mostrou-se resistente à medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio, por meio de testes em difusão em ágar. Considerando essa afirmação, estudaram-se medicamentos alternativos que atuem sobre este microorganismo.

Para a avaliação da atividade antimicrobiana utilizou-se o método de difusão e ação direta dos materiais em ágar, também utilizado nos estudos de Brilliant *et al.* (1974), Siqueira Jr. *et al.* (1997), Siqueira & Uzeda (1997) e Leonardo *et al.* (1999). Esse método permite a avaliação quantitativa por meio da medição dos halos de inibição, fato que favorece a análise de dados e oferece conclusões mais confiáveis.

O meio de cultura sólido Mueller Huiton e a infusão bacteriana foi preparada segundo a escala 0,5 de McFarland, corroborando trabalho de Nassri *et al.*, 2001 e Siqueira Jr. *et al.*, 1997.

As medicações foram aplicadas e analisando os resultados dos halos inibitórios observou-se que o Pred-fort + Rifocina (1:2) apresentaram maior halo de inibição. Os antibióticos do grupo das Rifamicinas são bactericidas e praticamente atóxicos. Seu espectro de ação compreende principalmente cocos Gram positivos, especialmente estafilococos (Siqueira Jr. *et al.*, 1996).

Seguido do Pred-fort + Rifocina, o Otosporin

foi o medicamento que apresentou maior halo. Isso pode ter ocorrido em decorrência do sulfato de neomicina e o sulfato de polimixina B, que, por estarem em solução líquida, exercem efeito antibacteriano. A hidrocortisona, componente do Otosporin, exerce a função de antisséptico endodôntico e previne a irritação periapical (Gurney *et al.*, 1974).

O NDP apresentou menor halo inibição quando comparado aos outros medicamentos utilizados nessa pesquisa. Isso ocorreu devido a presença de corticosteróide (dexametasona), que por sua vez tem função apenas antiinflamatória, segundo pesquisa de Antoniazzi *et al.*, em 1981. Porém, apresentou alguma ação inibitória por estar associado ao paramonoclorofenol que tem ação antibacterina (Siqueira Jr. *et al.*, 1996). Essa medicação não teve ação tão evidenciada quanto às acima descritas por terem em sua composição antibióticos de maior espectro.

Com base nos resultados obtidos nesse estudo podemos afirmar que a ação inibitória dos microorganismos depende da potencialidade antibacteriana do medicamento. Porém, novos estudos sobre essas e outras medicações intracanaís e as bactérias sobre as quais atuam devem ser realizados a fim de um avanço na terapêutica endodôntica.

CONCLUSÕES

Todas as medicações utilizadas inibiram crescimento bacteriano quando em contato com o *Staphylococcus aureus*.

Em ordem decrescente, o Pred-Fort + Rifocina, o Otosporin e o NDP apresentaram maiores halos de inibição bacteriana.

Lamping R, Maekawa LE, Nassri MRG, Oliveira S de. Comparative analysis of antimicrobial potencial of three root canal dressings. J Bras Endod 2005; 5(20):376-80.

The aim of this study was to determine the root canal dressings' antimicrobial potential: NDP, Pred-fort associated to Rifamicin and Otosporin, when in contact with bacterial commonly found in root canal (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) in Mueller Hinton medium. The bacterial infusion was prepared using medium TSB with 0,5 McFarland turbidity scale. Sterilized Petri dishes were used for accommodation of two medium layers. On the first layer was placed 10 ml of Mueller Hinton. The second layer of 10 ml too was prepared using bacterial infusion diluted to 1×10^6 in TSB medium and 5 ml of solid medium resulting on concentration of 15×10^5 CFU/ml that was placed on the first layer. Paper discs were previously steeped in root canal dressings and putted on medium. The dishes were maintained in the dry heat during 24 hours in 36°C to analysis of results. This analysis was defined

to measurement of inhibition haloes at mm caused by medications. The values was subjected to statistic analysid. About the results there was formation of biggest inhibition haloes when utilization, in decreasing order, Pred-fort + Rifamicin, Otopsporin and finally NDP.

KEYWORDS: Endodontic; Microorganism; Root canal dressings.

REFERÊNCIAS

- Antoniazzi JH, Costa WF, Feller C, Zaitz F. O uso de uma associação de corticosteróide e antisséptico (DP) como curativo intra-canal entre sessões na terapia endodôntica. Rev Assoc Paul Cir Dent 1981; 35(1):12-17.
- Assed S, Leonardo MR, Silva LAB, Ito IY. Prevalência de microorganismos em canais radiculares de dentes com necrose pulpar e reação periapical crônica – imunofluorescência indireta – efeito do prepara biomecânico do curativo de demora pela cultura. Rev Bras Odontol 1996; 53(1):24-28.
- Brilliant JD, Marshal FJ, Rosen S. Further studies on the quantitation of root canal medicaments. J Brit Endont Surg Soc 1974; 7(1):29-36.
- Esberard RM, Queiroz SN, Santos AA. Curativo com tricresol formalina – Avaliação clínica e radiográfica em dentes humanos portadores de lesões periapicais crônicas. Rev Gaucha Odontol 1993; 41(4):209-12.
- Gurney BF. Clinical pharmacology in endodontics and intracanal medicaments. The Dent Clin of North Amer 1974; 18(2):257-67.
- Holland R, Souza V, Milanezi LA, Mello W. Comportamento da polpa dental após pulpotomia e aplicação tópica de alguns fármacos empregados na terapêutica conservadora. Rev Bras Odontol 1971; 167(1):33-39.
- Lage Marques JL, Mayer JLS, Simões W, Conti R. Análise antimicrobiana do hidróxido de cálcio P.A. sobre algumas espécies de microorganismos: contribuição ao estudo. Rev Fac Odontol F.Z.L. 1992; 4(2):75-80.
- Lage Marques JL, Antoniazzi JH. Quando a medicação intracanal é fundamental para o sucesso da terapia endodôntica. In: Feller C, Antoniazzi. J H. Atualização na clínica odontológica. Artes Médicas. p.58-89, 2000.
- Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru Filho M, Bonifácio KC, Ito IY. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de pastas utilizadas em Endodontia. Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent 1999; 53(5):367-70.
- Nassri MRG, Martinelli F, Portes ML, Pietro R, Lia RCC. Análise do potencial antimicrobiano de medicações intra-canal utilizadas em Endodontia. Braz Oral Research (Resumo apresentado na Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica) 2001; 15:82.
- Oliveira MDC, Almeida D, Seixas MEA, Pinto LP. Estudo bacteriológico de lesões periapicais do tipo crônicas. Rev Odonto Cienc 1994; 9(17):7-20.
- Rezende E, Paiva JG. Contribuição ao estudo da cicatrização de feridas cirúrgicas na pele de ratos após o uso tópico da hidrocortisona, prednisolona e triancinolona usadas em idênticas concentrações e associadas a um antibiótico. ARS Cvrandi 1976; 2(6):17-24.
- Siqueira Jr JF, Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole and calcium hydroxid associated with three vehicles. J Endodon 1997; 23:167-9.
- Siqueira Jr JF, Magalhães FMC, Uzeda M. Avaliação da atividade antibacteriana de medicação intracanal. Rev Gaúcha Odontol 1996; 44(5):271-74.
- Siqueira Jr JF, Lopes HP, Magalhães FMC, Uzeda M. Atividade antibacteriana da pasta de hidróxido de cálcio/ paramonoclorofenol canforado/ glicerina contendo diferentes proporções de iodóformio sobre bactérias anaeróbias estritas e facultativas. Rev Paul Odontol 1997; 2:17-21.
- Soares IJ, Felipe MCS, Soares IM. Medicação prévia com tricresol formalina – Avaliação clínica do seu emprego. Rev Gaúcha Odontol 1993; 41(4):245-48.

Recebido para publicação em: 30/09/03

Enviado para análise em: 15/10/03

Aceito para publicação em: 07/12/04