

# EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES UTILIZADAS NA ENDODONTIA PELO MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR EM CAMADA DUPLA

**Palavras-Chave:** Endodontia; Irrigantes; Atividade microbiana

**Autores(as):**

**Mariana Nery dos Santos Machado, FOP/UNICAMP**

**Ana Beatriz Safady Lopes, FOP/UNICAMP**

**Bianca Cardozo, FOP/UNICAMP**

**Gabriel Fernandes Patronieri, FOP/UNICAMP**

**Larissa de Souza Oliveira, FOP/UNICAMP**

**Leonardo Cassim Rufino, FOP/UNICAMP**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Talita Tartari, FOP/UNICAMP**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana de Jesus Soares, FOP/UNICAMP**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes (orientadora), FOP/UNICAMP**

---

## INTRODUÇÃO:

A instrumentação mecânica por si só não consegue eliminar totalmente os microrganismos do sistema de canais radiculares (Gomes et al.; 2004). Portanto, as substâncias químicas auxiliares (SQA) são essenciais para aprimorar a desinfecção durante o tratamento endodôntico, reduzindo significativamente a carga microbiana e melhorando os resultados (Gomes et al.; 2013). Entre as SQA mais utilizadas estão o hipoclorito de sódio 2,5% (NaOCl) e a clorexidina gel 2% (CHX), ambas bem estabelecidas na endodontia. Além disso, Otosporin (OTO) e Otomixyn (OTM) são frequentemente utilizados na terapia de polpa vital para reduzir o desconforto pós-operatório e podem ter potencial antimicrobiano (Ferreira et al.; 2020).

## OBJETIVOS:

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana de várias SQA utilizando o método de difusão em ágar em camada dupla.

## METODOLOGIA:

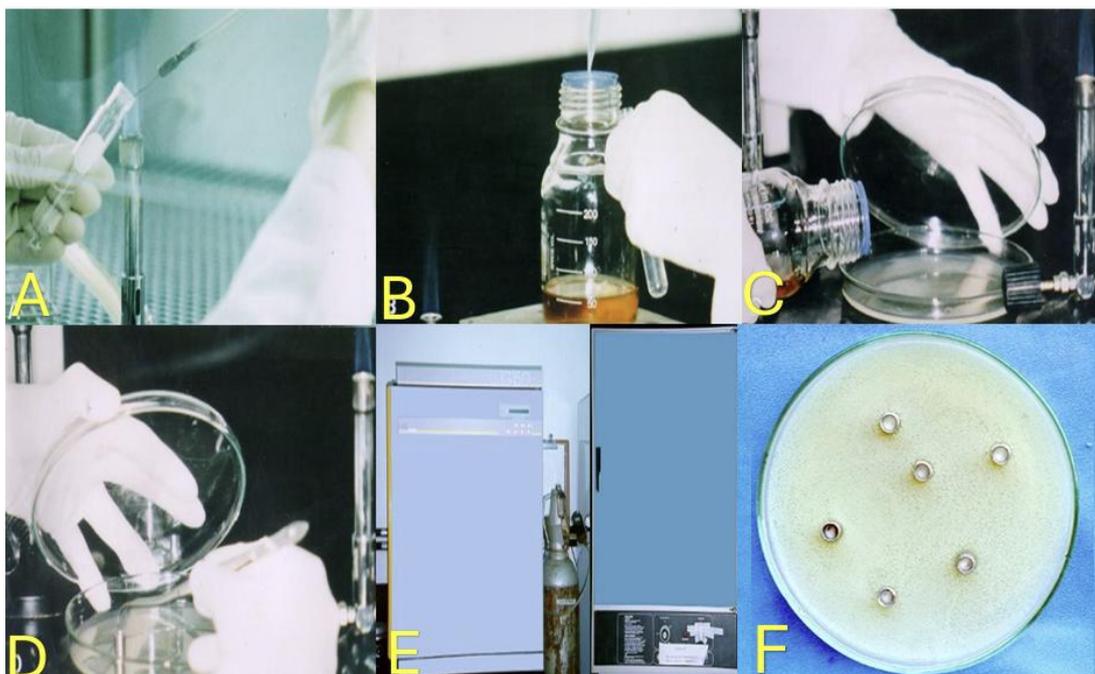
A atividade antimicrobiana é testada pelo método de difusão em ágar, com algumas modificações, e posterior leitura dos halos de inibição de crescimento microbiano. As substâncias químicas auxiliares testadas - CHX gel 2%, NaOCl 2,5%, OTO, OTM e solução salina (SS, grupo controle) - foram avaliadas contra *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, que são considerados patógenos chave em infecções endodônticas persistentes (Siqueira et al.; 2009).

Inicialmente, microrganismos aeróbios e facultativos são subcultivados em placas de Brain Heart Infusion Agar (BHIA) e incubados por 18-24 horas a 37°C (em atmosfera de O<sub>2</sub> para aeróbios e 10% CO<sub>2</sub> para facultativos). Após o crescimento em meio sólido, colônias isoladas de aeróbios e facultativos são suspensas em tubos contendo 5 mL de solução estéril de NaCl a 0.89%. Depois da agitação mecânica, a suspensão é ajustada em espectrofotômetro com absorbância de 800nm, até atingir a concentração equivalente a 0.5 da escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  bactéria/mL).

Posteriormente, é realizado o preparo das camadas de ágar e do inóculo. Para avaliar a atividade antimicrobiana das substâncias testadas frente às bactérias aeróbias, facultativas e levedura, são utilizadas placas de 140 mm de diâmetro e utiliza-se o método de camada dupla. De início, são preparadas placas contendo 40 mL de Miller Hinton Agar (MHA) que servem de base para a camada de inóculo (seed), que é preparada a seguir. Depois, 50 mL de BHIA são preparados e autoclavados em frascos de vidro com tampas rosqueáveis. Durante o processo de resfriamento, enquanto o BHIA atinge 45°C, ainda em estado líquido, se adiciona 500µL do inóculo microbiano e se promove agitação uniforme do conjunto. O BHIA passa a ter 1% de inóculo microbiano, e é então distribuído sobre a camada sólida de MHA.

Após a solidificação dos meios de cultura, cilindros de inox estéreis são colocados sobre a superfície do ágar e, em seguida, os irrigantes são inseridos dentro dos cilindros por meio de seringas. Estas placas são mantidas por 2 horas à temperatura ambiente para permitir a difusão dos irrigantes na superfície de BHIA. Depois, as placas são incubadas a 37°C em condições gasosas apropriadas por entre 18 e 24 horas. Por fim, é feita a leitura dos halos de inibição.

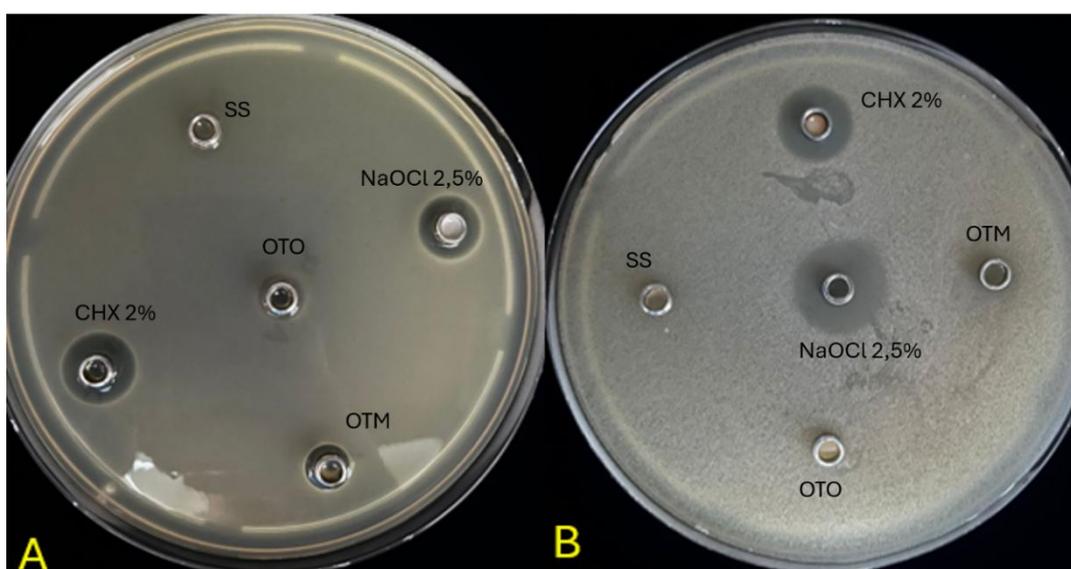
A primeira leitura para a *C. albicans* (microrganismo aeróbio) é feita após 24 horas de incubação e para o *E. faecalis* (microrganismo anaeróbio facultativo) é após 48 horas de incubação. Essa leitura é feita com o auxílio de paquímetro milimetrado em pelo menos dois sentidos. Os raios das áreas de inibição microbiana correspondem à menor distância entre a superfície externa do cilindro e o início da região de crescimento microbiano. A atividade antimicrobiana das soluções é testada três vezes, em diferentes tempos, sempre usando triplicatas.



**Figura 1. Método de Difusão em Ágar de Camada Dupla:** A- Suspensão microbiana, B-C-Semeadura em profundidade, D-Colocação de cilindros de aço inox contendo as substâncias químicas auxiliares manipulado sobre a camada "seed", E- Incubação, F- Halos de inibição (Figura extraída da tese de doutorado de Ferraz (1999)).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Com base na leitura dos halos de inibição, foi observado que a CHX 2% foi a substância que apresentou maior eficácia contra *E. faecalis*, seguida do NaOCl 2,5%, do OTM, do OTO e, por último, a solução salina. Contra *C. albicans* o NaOCl 2,5% possuiu maior eficácia, seguido pela CHX 2%, OTM, OTO e solução salina, respectivamente.



**Figura 2. Halos de Inibição Microbiana:** A- Halos de inibição contra *Enterococcus faecalis* B- Halos de inibição contra *Candida albicans*.

Sabe-se que hipoclorito e clorexidina são substâncias químicas auxiliares amplamente utilizadas na Endodontia e que tem sua eficácia antimicrobiana comprovada, porém em relação ao Otosporim e Otomyxin sabe-se sua capacidade de redução de dor pós-operatória em casos de tratamentos conservadores.

Portanto, o objetivo do estudo foi também avaliar sua capacidade antimicrobiana, nos resultados deste trabalho vemos que não houve redução nos halos de inibição, no entanto essas substâncias foram testadas somente contra dois microrganismos específicos, não inviabilizando a possibilidade de poder antimicrobiano em outros tipos de bactérias e fungos.

## CONCLUSÕES:

Conclui-se que o NaOCl 2,5% e a CHX 2% apresentaram maior atividade antimicrobiana contra *E. faecalis* e *C. albicans* em comparação com Otomixyn e Otosporin.

---

## APOIOS:



2015/23479-5  
2021/13871-6



303852/2019-4  
421801/2021-2



CAPES 001

---

## BIBLIOGRAFIA

Ferreira LL, Benetti F, Álamo L, Bosisio AC, Proença AS, Rahal V, Sipert CR, Briso ALF, Cintra LTA. Otosporin reduces pulp inflammatory reactions after dental bleaching of rat molars. *Dent Press Endod.* 2020;10(1):54-61.

Gomes BP, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol.* 2004 Apr;19(2):71-6. doi: 10.1046/j.0902-0055.2003.00116.x.

Gomes BP, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Ferraz CC. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J.* 2013;24(2):89-102. doi: 10.1590/0103-6440201302188.

Siqueira JF Jr, Rôças IN. Diversity of endodontic microbiota revisited. *J Dent Res.* 2009 Nov;88(11):969-81. doi: 10.1177/0022034509346549.