

Fitoterapia como alternativa à medicação intracanal convencional

Phytotherapy as an alternative to conventional intracanal medication

DOI 10.32712/2446-4775.2019.974

Espírito Santo, Roberta Passos do^{1*}; Pereira, Carolina de Lélis Rodrigues¹; Detone, Vinicius Medina¹; Chaves, Maria das Graças Afonso Miranda¹.

¹Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), campus Universitário, Rua José Lourenço Kelmer, s/n, São Pedro, CEP 36036-900, Juiz de Fora, MG, Brasil.

*Correspondência: robertapassosuff@gmail.com.

Resumo

O objetivo desse estudo foi avaliar *in vitro* a ação antimicrobiana de quatro medicações intracanal convencionais e a substância natural (tintura de própolis a 20%) como uma medicação intracanal alternativa, frente às cepas bacterianas *Enterococcus faecalis* e *Kocuria Rhizophila*. Foi realizado, em duplicata, o teste de difusão em ágar para as seguintes substâncias: hidróxido de cálcio, solução de clorexidina a 2%, paramonoclorofenol canforado (PMCC), Otosporin[®], e tintura de própolis a 20%. Os halos de inibição foram medidos depois de 24 h, em seguida foi feita a média entre as duas placas, e posteriormente o valor encontrado foi submetido à análise variância (ANOVA) e teste post-hoc (Tukey HSD). Houve diferença estatística significativa entre todas as substâncias testadas ($p < 0,05$), exceto para hidróxido de cálcio e Otosporin[®] frente à cepa *E. faecalis*. A tintura de própolis apresentou uma boa ação antimicrobiana, com resultados superiores ao hidróxido de cálcio, Otosporin[®] e PMCC contra *E. faecalis* e; ao hidróxido de cálcio contra *K. rhizophila*. Entretanto, a substância mais efetiva para ambas as bactérias foi a solução de clorexidina a 2%. Conclui-se que a própolis é uma alternativa viável como medicação intracanal, por possuir ação antibacteriana satisfatória, ser natural, atóxica, biocompatível e de baixo custo.

Palavras-chave: Endodontia. *Enterococcus faecalis*. Fitoterapia. Própole.

Abstract

The objective of this study was to evaluate *in vitro* the antimicrobial action of four conventional intracanal medications and the natural substance (20% propolis tincture) as an alternative intracanal medication, against bacterial strains *Enterococcus faecalis* and *Kocuria Rhizophila*. The agar diffusion test was performed in duplicate for the following substances: calcium hydroxide, 2% chlorhexidine solution, camphoric paramonochlorophenol (PMCC), Otosporin[®], and 20% propolis tincture. The inhibition halos were measured after 24 h, then the average between the two plates was made, and then the value found was subjected to analysis of variance (ANOVA) and post-hoc test (Tukey HSD). There was a statistically

significant difference between all tested substances ($p < 0.05$), except for calcium hydroxide and Otosporin® against the *E. faecalis* strain. The propolis tincture showed a good antimicrobial action, with results superior to calcium hydroxide, Otosporin® and PMCC against *E. faecalis* e; to calcium hydroxide against *K. rhizophila*. However, the most effective substance for both bacteria was the 2% chlorhexidine solution. It is concluded that propolis is a viable alternative as an intracanal medication, because it has satisfactory antibacterial action, is natural, non-toxic, biocompatible, and of low cost.

Keywords: Endodontics. *Enterococcus faecalis*. Phytotherapy. Propolis.

Introdução

Enterococcus Faecalis é classificada como uma bactéria anaeróbia facultativa, gram-positiva, encontrada na microbiota oral humana, podendo se estabelecer dentro dos canais radiculares, sendo frequentemente associada a infecções endodônticas persistentes^[1]. A elevada prevalência da espécie *E. faecalis* nos casos de insucesso endodôntico se justifica devido a diversos mecanismos de sobrevivência encontrados na literatura^[2], como sua habilidade de penetrar os túbulos dentinários, aderindo firmemente às paredes de dentina, e se organizando na forma de biofilme^[3]. Além de apresentar alta capacidade de adaptação e sobrevivência em condições desfavoráveis, com escassez de nutrientes^[2].

Outro microrganismo comumente encontrado em infecções endodônticas é a *Kocuria Rhizophila*, classificado como uma bactéria aeróbia gram-positiva^[4]. A cepa deste microrganismo possui células altamente resistentes sob variadas condições de crescimento e apresenta tolerância a solventes orgânicos^[5,6].

Além dos variados mecanismos de sobrevivência apresentados pelos patógenos, a dificuldade em tornar o sistema de canais um ambiente livre de microrganismos deve-se também à sua morfologia complexa e variável, o que torna, por vezes, o preparo químico mecânico insuficiente para a total eliminação dos microrganismos patológicos^[7]. Surge, por isso, a necessidade de complementar o preparo com uma medicação intracanal^[8], que deve apresentar ação antibacteriana, estimular o reparo tecidual^[9], e possuir biocompatibilidade com os tecidos periapicais^[10].

Diversas substâncias odontológicas são utilizadas como medicações intracanal destacando-se o hidróxido de cálcio, a solução de clorexidina, o paramonoclorofenol canforado (PMCC), e o Otosporin®^[11-16].

A fitoterapia é o ramo da ciência que estuda as plantas para o tratamento de doenças, sendo uma vertente crescente no mundo atual, pois estas apresentam menor toxicidade, maior biocompatibilidade e custos mais acessíveis à população^[17]. A Organização Mundial da Saúde (OMS) já reconhece na atualidade a importância da fitoterapia, sugerindo ser uma alternativa viável de grande importância para a população^[18].

Entre as substâncias fitoterápicas de uso científico comprovado, ressalta-se a própolis, substância resinosa, elaborada por abelhas a partir de partes de plantas, compreendendo cera, pólen e resinas^[19]. Dentre suas propriedades destacam-se sua ação anti-inflamatória, antimicrobiana, cicatrizante, regeneradora de tecido pulpar dental e antioxidante^[20-22], devido principalmente aos flavonóides e aos ácidos fenólicos presentes em sua composição^[23].

Avaliou-se *in vitro* a ação antimicrobiana de quatro medicações intracanal convencionais (hidróxido de cálcio PA, paramonoclorofenol canforado - PMCC, solução de clorexidina a 2%, e Otosporin®) e a substância natural (tintura de própolis a 20%) como uma medicação intracanal alternativa frente às cepas bacterianas *Enterococcus faecalis* e *Kocuria Rhizophila*.

Material e Método

A análise da ação antimicrobiana das substâncias testadas foi realizada pelo método de difusão junto ao meio de cultura *brain heart infusion* ágar (BHI ágar, DIFCO, Maryland, EUA).

O teste de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, é um método no qual um microrganismo é testado frente a uma substância biologicamente ativa em um meio de cultura sólido, e avalia-se a eficácia da substância testada de acordo com o tamanho do halo de inibição de crescimento obtido em volta do poço. A aplicação do método de difusão se limita a microrganismos de crescimento rápido. De acordo com a dimensão do halo os microrganismos testados podem ser classificados como: sensíveis, moderadamente sensíveis e resistentes^[24].

Foram testadas cinco medicações: hidróxido de cálcio pró-análise, paramonoclorofenol canforado (PMCC), solução de clorexidina a 2%, Otosporin® (hidrocortisona 10 mg/mL + sulfato de neomicina 5 mg/mL + sulfato de polimixina B 10.000 UI/mL) e tintura de própolis a 20%.

Em 22 placas de petri estéreis foram depositadas 20 ml de meio de cultura *brain heart infusion* ágar (BHI ágar, DIFCO, Maryland, EUA). Como linhagem bacteriana pura, foram utilizadas *Enterococcus faecalis* (ATCC51299) e *Kocuria Rhizophila* (ATCC51299). As cepas puras liofilizadas foram inicialmente cultivadas e em seguida diluídas em 10 ml de solução fisiológica estéril, até obter-se uma turbidez visualmente comparada ao padrão 0,5 na escala nefelométrica de Mc Farland (escala padrão, utilizada em microbiologia, que corresponde a aproximadamente 150 milhões de microrganismos por ml do meio).

Cada uma das duas linhagens bacterianas foram espalhadas com o auxílio de um swab estéril sobre 2 placas contendo BHI Agar. O preparo dos meios de cultura e a semeadura das cepas foram realizados em uma capela de fluxo laminar, para que não ocorresse contaminação das placas por outros microrganismos. Em seguida, em cada uma das placas, foi confeccionada uma escavação junto ao meio de cultura, utilizando um punch estéril. O diâmetro das escavações foi padronizado em 8 mm. Cada escavação foi preenchida de maneira uniforme por cada uma das cinco substâncias testadas. Os testes foram realizados em duplicata, ou seja, para cada substância foram realizados dois testes com cada um dos microrganismos cultivados, exceto as placas de controle (controle negativo), uma para *K. rhizophila* e outra para *E. faecalis*, onde não foi testada medicação.

A difusão do medicamento no meio foi feita por 30 minutos e, em seguida, as placas foram armazenadas em uma estufa a 37°C por 24 h, seguindo as condições de incubação recomendadas para bactérias no teste de difusão em ágar: temperatura de 35 - 37°C durante 24 a 48 horas^[25].

Decorrido o tempo de incubação foi verificada a presença ou não do halo de inibição e seu tamanho. Como instrumento de medida utilizou-se uma régua milimetrada. A verificação do tamanho do halo foi feita em dois sentidos, horizontal e vertical, tendo como ponto de orientação o centro da escavação.

Resultados e Discussão

Os resultados encontrados em relação aos halos de inibição podem ser encontrados na (TABELA 1 e 2), *Enterococcus faecalis* e *Kocuria rizophila*, respectivamente.

TABELA 1: Halo de inibição *E. faecalis*.

Medicação testada	Placa 1 (mm)	Placa 2 (mm)	Média (mm)
Clorexidina 2%	30	28	29
Otosporin®	15	16	15,5
PMCC	20	20	20
Hidróxido de Cálcio	15	15	15
Tintura de Própolis 20%	25	25	25

TABELA 2: Halo de inibição *K. rizophila*.

Medicação testada	Placa 1 (mm)	Placa 2 (mm)	Média (mm)
Clorexidina 2%	38	39	38,5
Otosporin®	37	35	36
PMCC	30	30	30
Hidróxido de Cálcio	13	13	13
Tintura de Própolis 20%	20	20	20

Com relação aos dados obtidos na medição de cada um dos medicamentos, foi feita a média entre as duas placas e posteriormente, o valor encontrado foi submetido à análise variância (ANOVA) e teste post-hoc (Tukey HSD) conforme (TABELA 3 e 4).

TABELA 3: Substâncias testadas agrupadas contra a *E. faecalis*.

Halos de inibição						
Tukey HSD	Medicamentos	N	Subconjunto para alpha = 0.05			
			1	2	3	4
	Hidróxido de Cálcio	2	15.00			
	Otosporin®	2	15.50			
	PMCC	2		20.00		
	Própolis	2			25.00	
	Clorexidina 2%	2				29.00
	Sig.		.982	1.000	1.000	1.000

TABELA 4: Substâncias testadas agrupadas contra a *K. rhizophila*.

Halos de inibição							
Tukey HSD	Medicamentos	N	Subconjunto para alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
	Hidróxido de Cálcio	2	13.00				
	Própolis	2		20.00			
	PMCC	2			30.00		
	Otosporin®	2				36.00	
	Clorexidina 2%	2					38.50
	Sig.		.631	1.000	1.000	1.000	1.000

O hidróxido de cálcio é amplamente empregado como medicação intracanal na endodontia, porém diversos estudos demonstram que este medicamento não apresenta resultados satisfatórios contra a espécie *E. Faecalis*^[11, 2, 26]. A resistência da espécie está relacionada à apresentação de uma resposta positiva ao Ph alcalino, sendo capaz de acidificar o citoplasma bacteriano por meio de uma bomba de prótons, o que justificaria sua resistência a medicamentos intracanal a base de hidróxido de cálcio^[27]. Tal afirmação corrobora com os resultados do presente estudo, em que a medicação apresentou a menor atividade antibacteriana dentre todas as substâncias testadas contra as cepas *E. faecalis* e *K. rhizophila*.

Dentre as substâncias testadas, a solução de clorexidina a 2% foi a que apresentou maior efetividade frente às duas cepas utilizadas no estudo, o que corrobora com outros estudos que constataram melhor atividade antibacteriana da clorexidina frente a *E. faecalis*, em relação ao hidróxido de cálcio^[28,29], e a própolis^[28].

Observou-se que a própolis apresentou maior efetividade do que a medicação hidróxido de cálcio frente às duas cepas testadas no estudo. A atividade bacteriana superior da própolis em relação ao hidróxido de cálcio frente a *E. faecalis* ^[30,26,28,31] e a *K. rhizophila* ^[26] já foi constatada em outras pesquisas.

Em contrapartida, alguns estudos mostram a inefetividade da própolis contra a *E. faecalis*^[32, 33]. A razão para tais resultados conflitantes pode estar relacionada a uma variedade de fatores, dentre eles podemos citar as diferenças metodológicas de cada estudo (*in vitro* e *ex vivo*), as limitações existentes para cada tipo de teste, e também se pode citar as diferentes formas de apresentação da substância testada, pois no presente estudo foi utilizada a tintura de própolis, enquanto que em um dos estudos que constatou a ineficácia da substância, foi utilizado o extrato de própolis^[33]. Outro ponto a ser levado em consideração é a finalidade para qual a própolis foi utilizada. No presente estudo, a substância natural foi testada como medicação intracanal, em contrapartida, o outro estudo testou a substância como irrigante intracanal^[32].

Conclusão

Conclui-se que a própolis é uma alternativa viável como medicação intracanal, principalmente por ser uma substância natural, atóxica e com efetividade contra os microrganismos testados.

Referências

1. Pereira L et al. Avaliação do pH de substâncias utilizadas como medicação intracanal em diferentes veículos. **Rev Sul Bras Odontol.** 2009; 6(3): 243-247. ISSN 1806-7727. [\[Link\]](#).
2. Ferreira FB, Torres A, Rosa OPS, Ferreira CM, Garcia RB, Marcucci MC et al. Antimicrobial effect of propolis and other substances against selected endodontic pathogens. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2007; 104(5): 709-716. ISSN 2212-4411. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
3. Almeida J, Santos GV, Orsi MT, Cechella BC, Bernardi AV, Felipe WT. Tratamento do biofilme intracanal de *Enterococcus faecalis* com suspensões de diferentes nanopartículas e irrigantes convencionais. **Arq Odontol.** 2015; 51(1): 32-38. ISSN 1516-0939. [\[Link\]](#).
4. Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima MEL, Kaneko TM, Nishikawa SO, Freitas BR et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Rev Bras Farmacogn.** 2008; 18(2): 301-307. ISSN 0102-695X. [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#).
5. Sena IADA et al. Antibacterial effectiveness *in vitro* of different formulations of calcium hydroxide paste. **Rev Gauch Odontol.** 2017; 65(4): 293-298. ISSN 1981-8637. [\[CrossRef\]](#).
6. Endo MM et al. Antibacterial action of red and green propolis extract in infected root canal. **Rev Odonto Ciênc.** 2017; 32(2): 99-103. ISSN 1980-6523. [\[CrossRef\]](#).
7. Machado AC, Oliveira RC. Medicamentos Fitoterápicos na odontologia: evidências e perspectivas sobre o uso da aroeira-do-sertão (*Myracrodruonurundeuva* Allemão). **Rev Bras PI Med.** 2014; 16(2): 283-289. ISSN 1516-0572. [\[CrossRef\]](#).
8. Ercan E, Dalli M, Dulgergil CT. *In vitro* assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2006; 102(2): 27-31. ISSN 2212-4411. [\[PubMed\]](#).
9. Almeida DCD et al. Própolis na Odontologia: Uma abordagem de suas diversas aplicabilidades clínicas. **Rev Flum Odontol.** 2016; 22(46). ISSN 1413-2966. [\[CrossRef\]](#).
10. Kim WJ, Kim YO, Kim DS, Choi SH, Kim DW, Lee JS et al. Draft Genome sequence of *Kocuria rhizophila* P7-4. **J Bacteriol.** 2011; 193(16): 4286-4287. ISSN 1098-5530. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
11. Kopper PMP et al. Avaliação, *in vitro*, da atividade antimicrobiana de três cimentos endodônticos. **Rev Odonto Ciênc.** 2007; 22(56): 106-111. ISSN 1980-6523. [\[Link\]](#).
12. Braz MCA et al. Dentes submetidos a diferentes medicações intracanal. **Rev Saú Biotec.** 2017; 1(1): 48-60. [\[Link\]](#).
13. Rocha C et al. Atividade antimicrobiana do PMCC, por contato direto e vapor, frente ao *Enterococcus faecalis* e ao *Staphylococcus aureus*. **Stomatol.** 2010; 16(31): 45-54. ISSN 2236-8396. [\[Link\]](#).
14. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F et al. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. **Fitoterapia.** 2002; 73(Supl. 1): S53-63. ISSN 0367-326X. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
15. Victorino FR et al. Antibacterial activity of propolis-based toothpastes for endodontic treatment. **Braz J Pharm Sci.** 2009; 45 (4). ISSN 2175-9790. [\[CrossRef\]](#).
16. Evans M et al. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **Int Endod J.** 2002; 35(3): 221-228. ISSN 1365-2591. [\[PubMed\]](#).

17. Rezende HÁ, Cocco MIM. A utilização de Fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Rev Esc Enferm USP**. 2002; 36(3): 282-288. ISSN 0080-6234. [[CrossRef](#)].
18. Carvalho ADAT et al. Atividade Antimicrobiana *in vitro* de Extratos Hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre Bactérias Gram-Negativas. **Acta Farm Bonaer**. 2002; 21(4): 255-258. ISSN 0326-2383. [[Link](#)].
19. Silva ARM. Ação antibacteriana de diferentes medicações intracanaís frente a *Enterococcus faecalis*. Porto; 2013. Tese de Doutorado [em Medicina Dentária] - Universidade do Porto. Portugal.
20. Queiroz AL, Nelson Filho P, Silva LAB, Assed S, Silva RAB, Ito IY. Antibacterial activity of root canal filling materials for primary teeth: Zince oxide and Eugenol cement, calen paste thickened with zince oxide, sealapex and endo REZ. **Braz Dent J**. 2009; 20(4): 290-296. ISSN 0103-6440. [[CrossRef](#)].
21. Mezzomo VC et al. Avaliação das soluções de Clorexidina e de Hipoclorito de Sódio na descontaminação de cones de guta percha contaminados por *Enterococcus faecalis*. **J Oral Investig**. 2017; 6(2): 21-32. ISSN 2238-510X. [[CrossRef](#)].
22. Maia Filho EM et al. Efeito antimicrobiano *in vitro* de diferentes medicações endodônticas e própolis sobre *Enterococcus faecalis*. **RGO**. 2008; 56(1): 21-25. ISSN 1981-8637. [[Link](#)].
23. Di Santi BT, Ribeiro MB, Endo MS, Gomes BPFA. Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias anaeróbias facultativas isoladas de canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico frente aos antibióticos de uso sistêmico. **Rev Odontol UNESP**. 2015; 44(4): 200-206. ISSN 1807-2577. [[CrossRef](#)].
24. Sforcin JM, Fernandes Jr A, Lopes CA, Bankova V, Funari SR. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. **J Ethnopharmacol**. 2000; 73(1-2): 243-249. ISSN 0378-8741. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
25. Toda H, Ohuchi T, Imae R, Itoh N. Microbial production of aliphatic (S) - epoxyalkanes by using *Rhodococcus* sp. Strain ST-10 styrene monooxygenase expressed in organic-solvent-tolerant *Kocuria rhizophila* DC2201. **Applied Environ Microbiol**. 2015; 81(6): 1919-1925. ISSN 1098-5336. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
26. Só MVR, Wagner MH, Rosa RA, Telles L, Colpani F, Henz S et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* de uma suspensão de própolis frente ao *Enterococcus faecalis*. **RFO UPF**. 2011; 16(3): 277-281. ISSN 1413-4012. [[Link](#)].
27. Garcia NA et al. Medicações intracanal e sistêmica utilizadas por cirurgiões-dentistas das unidades de saúde da família para tratamento de urgência do abscesso periapical agudo. **Arq Odontol**. 2014; 50(1): 13-19. ISSN 1516-0939. [[Link](#)].
28. De-Melo AAM et al. Capacidade antioxidante da própolis. **Pesq Agropec Trop**. 2014; 44(3): 341-348. ISSN 1983-4063. [[CrossRef](#)].
29. Dotto SR et al. Avaliação da ação antimicrobiana de diferentes medicações usadas em endodontia. **Rev Odonto Ciênc**. 2006; 21(53): 266-269. ISSN 1980-6523. [[Link](#)].
30. Awawdeh L, Al-Beitawi M, Hammad M. Effectiveness of propolis and calcium hydroxide as a short-termintracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: A laboratory study. **Aust Endod J**. 2009; 35(1): 52-58. ISSN 1747-4477. [[PubMed](#)].
31. Nacif MCAM, Alves FRF. *Enterococcus faecalis* na Endodontia: um desafio ao sucesso. **Rev Bras Odontol**. 2010; 67(2): 209-214. ISSN 1984-3747. [[CrossRef](#)].
32. Cogo DM et al. Potentiation of the action of calcium hydroxide on *Enterococcus faecalis* by proton pump inhibitor omeoprazole. **Rev Odonto Ciênc**. 2015; 30(3): 76-80. ISSN 1980-6523. [[Link](#)].

33. Siqueira AL et al. Estudo da ação antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha sobre *Enterococcus faecalis*. **Rev Odontol UNESP**. 2014; 43(6): 359-366. ISSN 1807-2577. [[CrossRef](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 21/03/2020 | **Aceite:** 21/08/2020 | **Publicação:** 30/09/2020

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Espírito Santo RP, Pereira CLR, Detone VM, Chaves MGAM. Fitoterapia como alternativa à medicação intracanal convencional. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2020; 14(3): 382-389. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/974>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

