

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO: BACHARELADO EM ODONTOLOGIA

GABRIELA DE ANDRADE LIMA

**AÇÃO ANTIMICROBIANA DE SOLUÇÃO À BASE DE POLIHEXAMETILENO
BIGUANIDA NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO**

PATOS/PB

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO: BACHARELADO EM ODONTOLOGIA

GABRIELA DE ANDRADE LIMA

**AÇÃO ANTIMICROBIANA DE SOLUÇÃO À BASE DE POLIHEXAMETILENO
BIGUANIDA NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Coordenação do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciana Ferraz Gominho

Co-orientadora: Prof^a. Ms. Maria Kaline Romeiro Teodoro

PATOS/PB

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

L732a

Lima, Gabriela de Andrade

Ação antimicrobiana de solução à base de polihexametileno biguanida no tratamento endodôntico / Gabriela de Andrade Lima. – Patos, 2018.
49f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Odontologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2018.

"Orientação: Profa. Dr^a. Luciana Ferraz Gominho".

"Co-orientação: Profa.. Ms. Maria Kaline Romeiro Teodoro".

Referências.

1. Endodontia. 2. Clorexidina. 3. Enterococcus faecalis. I. Título.

CDU 616.314.18

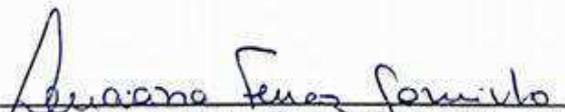
GABRIELA DE ANDRADE LIMA

**AÇÃO ANTIMICROBIANA DE SOLUÇÃO À BASE DE POLIHEXAMETILENO
BIGUANIDA NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO**

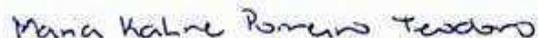
Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à coordenação do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campinha Grande – UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Aprovado em: 05 / 03 / 2018

BANCA EXAMINADORA



Prof.(a) Dra. Luciana Ferraz Gominho – Orientadora
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG



Prof.(a) MSc. Maria Kaline Romeiro Teodoro – 1ª Membro
Faculdade Escritor Osman da Costa Lins - FACOL



Prof.(a) Dra. Cyntia Helena Pereira de Carvalho – 2ª Membro
Universidade Federal de Campina Grande - UFCG

*A minha mãe, Elizabete de Andrade
Minha base, referência, apoio e amor desde sempre!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser minha força e sustento em todos os momentos, nunca estou só; Aos meus pais, **Raimundo Hermógenes Aragão Lima** e **Francisca Elizabete de Andrade Lima** por todo apoio, amor, dedicação e ensinamentos no decorrer da minha vida. À minha mãe, principalmente, por batalhar, perseverar e nunca desistir apesar dos momentos difíceis, priorizando a felicidade de todos ao seu redor.

As minhas irmãs **Renata Lima** e **Natália Lima**, que tanto amo, e que além de melhores amigas, são parceiras da vida! Aos meus sobrinhos, **Eduardo** e **Vinícius** que foram durante esses cinco anos, minha maior saudade, os quais me alegram e preenchem minha vida com mais amor.

A toda minha família, avôs (*in memoriam*), avós, tios, tias, primos e primas, por sempre se mostrarem disponíveis a me ajudar e por torcerem pela minha felicidade e sucesso.

A minha amiga, **Carlíane Aragão**, pela amizade, companheirismo e por se fazer presente nos momentos de dificuldade e alegria, ajudando em meu crescimento pessoal e amadurecimento durante esse último ano, me mostrando que mesmo com pouco de tempo de convívio, podemos encontrar pessoas capazes de marcar nossas vidas para sempre.

Ao meu amigo-irmão, **Cezimar Filho**, por toda amizade e parceria. Somos indissociáveis aos olhos de muitos (Cezi da Gabi/Gabi de Cezi), e realmente, não consigo enxergar minha vida em Patos sem sua presença. Obrigada, por todos os momentos compartilhados, por dividir comigo os melhores anos de nossas vidas, como sempre comentamos: “Podemos dizer que vivemos TUDO intensamente e não deixamos de fazer nada”! Deus não nos uniu por acaso!

A minha eterna dupla da faculdade, **Thyalle Laís**, por me aturar durante esses 5 anos (rsrs), por se mostrar disponível e me ajudar em todas as dificuldades no dia a dia da clínica, por dividir angústias, responsabilidades, aflições, mas também muito aprendizado e ensinamentos.

Aos amigos e colegas que fiz durante esses 5 anos de curso, que como eu, vieram de estados diferentes viver o sonho de se formar em Odontologia em Patos-PB, e juntos formamos uma grande família, convivendo diariamente, respeitando as diferenças e evoluindo. Os quais desejo toda felicidade e sucesso, sempre!

A minha orientadora, **Luciana Ferraz Gominho**, na qual tenho grande admiração, agradeço por todos os ensinamentos, conhecimentos compartilhados, confiança depositada e oportunidades que me foram dadas. Toda sua dedicação e amor pela endodontia me influenciaram de uma forma inspiradora!

A minha co-orientadora, **Kaline Romeiro**, que tanto me ajudou, obrigada, por todos os conhecimentos compartilhados, pela paciência, educação e por se mostrar sempre disponível durante esse período.

A todos os professores do curso de Odontologia, que mesmo com todas as dificuldades presentes, se mostram dispostos a ajudar. Obrigada, por contribuírem com minha formação profissional e por todos os ensinamentos diários.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi comparar a eficácia antibacteriana da solução de polihexametileno biguanida (PHMB) a 0,2% e Clorexidina (CHX) a 2% como soluções irrigantes em canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Cinquenta raízes distais de molares inferiores de humanos foram selecionados e distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos: PHMB (N = 20), CHX (N = 20), controle positivo (N = 5) e controle negativo (N = 5). Com exceção do controle negativo, as raízes foram inoculadas com *E. faecalis* (ATCC 29212) cultivado em meio de cultura *Brain Heart Infusion* (BHI) caldo. Os dentes foram incubados sob 37°C por 4 semanas e BHI foi renovado semanalmente para garantir a viabilidade bacteriana. Os canais foram irrigados com 1mL de solução salina estéril 0,9% para remover células remanescentes e as amostras foram coletadas usando os cones de papel no comprimento de trabalho, antes (S1) e após a instrumentação do canal radicular (S2). Toda a coleta das amostras bacteriológicas foi submetida à quantificação por método de cultura. O instrumento WaveOne Gold Large (45/.05) (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) foi utilizado na instrumentação das raízes. As soluções irrigadoras foram injetadas usando uma agulha de calibre 30G perfazendo um total de 3 mL de solução usada por canal. Após o preparo do canal, a coleta S2 seguiu o mesmo padrão que em S1. Qualitativamente, o PHMB resultou em todos os casos com cultura negativa em S2 (100%). O grupo CHX também conseguiu reduzir significativamente os níveis de *E. faecalis*, entretanto apenas um dente apresentou bactérias cultiváveis em S2. Pode-se observar que a solução de PHMB a 0,2% foi bastante eficaz na redução de *E. faecalis*. O PHMB conseguiu reduzir a zero as contagens bacterianas, mesmo com uma solução em concentração de 0,2%, obtendo padrão de descontaminação semelhante à Clorexidina a uma concentração de 2%.

Palavras-chave: endodontia. clorexidina. enterococcus faecalis.

ABSTRACT

The purpose of this study was to compare the antibacterial efficacy of 0,2% polyhexamethylene biguanide solution (PHMB) and 2% chlorhexidine (CHX) as irrigants against *Enterococcus faecalis* (E.F) infecting root canals. Fifty distal roots of mandibular human molars were selected and randomly placed in the following groups: PHMB (N=20), CHX (N=20), positive control (N=5) and negative control (N=5). With the exception of negative control, the roots were inoculated with *E. faecalis* (ATCC 29212) in BHI broth. The teeth were incubated under 37⁰C for 4 weeks and fresh BHI broth was replaced every week to ensure bacterial viability. Canals were rinsed with 1mL sterile 0.9% saline solution to remove unattached cells, and samples were collected by using paper points sequentially at the working length, before (S1) and after (S2) chemomechanical preparation. All bacteriological sample collection were submitted to quantification by culture. The instrument WaveOne Gold Large (45/.05) (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) was used to instrumentation. The irrigants solutions were delivered by using a 30-gauge needle between each instrument change, with a total of 3mL used per canal. After preparation, S2 followed the same pattern as in S1. Qualitatively, PHMB resulted in all cases with negative culture in S2 (100%). The CHlx group also succeeded in significantly reducing *E. faecalis* levels, however only one tooth still had detectable bacteria in S2. It could be observed that 0.2% PHMB solution was highly effective in reducing *E. faecalis*. PHMB was able to reduce to zero the bacterial counts, even having a 0.2% concentration, with results as 2% chlorhexidine.

Keywords: endodontics. chlorhexidine. enterococcus faecalis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHI - *Brain Heart Infusion*

CHX - Clorexidina

°C - Grau Celsius

DNA - Ácido desoxirribonucleico

EDTA - ácido etilenodiamínico

et al. - Colaboradores

FR - Fator de redução

MRSA - Staphylococcus Aureus Resistente à Meticilina

N - Número Total da Amostra

NaCl - Soro fisiológico

NaOCl - Hipoclorito de Sódio

p - Valor de significância estatística

PHMB - Polihexametileno Biguanida

pH - Potencial Hidrogeniônico

Pr - Prontosan wound gel

S1 - Coleta de amostras inicial

S2 - Coleta de amostras final

UFC - Unidade formadora de colônia

µL - Microlitro

% - Símbolo matemático de porcentagem

(™) - Trade Mark (marca comercial, em inglês) – marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1 Panorama científico da atividade antimicrobiana da Clorexidina e do PHMB ..	14
REFERÊNCIAS.....	21
3 ARTIGO	25
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
ANEXO 1 - TERMO DE SOLICITAÇÃO DE DENTES PARA PESQUISA	42
ANEXO 2 - PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	43
ANEXO 3 – NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA GAÚCHA DE ODONTOLOGIA	47

1 INTRODUÇÃO

Os microrganismos cumprem um importante papel na etiologia e manutenção das infecções endodônticas. Estes deverão ser eliminados durante o preparo biomecânico através do uso dos instrumentos endodônticos, com sua ação mecânica, das propriedades físico-químicas e antimicrobianas das soluções irrigadoras auxiliares e pela ação da medicação intracanal (CÂMARA; ALBUQUERQUE; AGUIAR, 2010).

Devido a complexa anatomia dos canais radiculares e o acesso aos mesmos ser limitado, patógenos podem ficar confinados nos túbulos dentinários, acarretando possível proliferação e reinfecção, sendo que, aproximadamente 50% das paredes dos canais permanece não instrumentado durante o preparo, resultando em uma limpeza insuficiente (PETERS et al., 2001). Por esse motivo, deve-se combinar o uso de substâncias químicas associadas ao preparo mecânico, com o intuito de reforçar a desinfecção (PRETEL et al., 2011), assim, a utilização de soluções irrigadoras durante o preparo biomecânico torna-se de grande importância para a limpeza e eliminação de microrganismos presentes no interior do sistema de canais radiculares (CÂMARA; ALBUQUERQUE; AGUIAR, 2010). A solução irrigadora ideal deve exibir forte ação antimicrobiana, possuir capacidade de dissolver material orgânico, ação lubrificante, apresentar baixa tensão superficial e não trazer efeitos citotóxicos que possam lesar os tecidos perirradiculares (ZEHNDER, 2006).

Desenvolvida nos anos 40 pela Indústria Química Imperial na Inglaterra, a clorexidina chegou ao mercado em 1954 como um anti-séptico para ferimentos na pele, foi utilizada primeiramente na Odontologia para desinfecção pré-cirúrgica (ADDY; MORAN, 1997). Ela vem sendo já há algum tempo utilizada na Endodontia como solução irrigadora e medicação intracanal, por possuir atividade antibacteriana de amplo espectro, capacidade de adesão ao tecido dentinário, biocompatibilidade, baixa citotoxicidade e principalmente, substantividade, permitindo desse modo um tempo de atuação prolongado (SIQUEIRA, 2004).

Além da clorexidina, pesquisas apontam que polihexametileno biguanida (PHMB) já conhecido e usado há muitos anos como antisséptico em medicina, na concentração de 0,04% e 0,12%, mostrou inibir o crescimento da placa e reduzir as contagens bacterianas orais (WELK et al., 2005). A citotoxicidade e o potencial de irritação do PHMB mostraram ser consideravelmente menores do que outros antissépticos (KRAMER et al., 2004) e recentemente, pode-se constatar que este, exibe um aumento significativo na eficiência antibacteriana com o aumento do pH (WIEGAND et al., 2015). Conseqüentemente, o PHMB torna-se uma substância de relevância para ser analisada e testada diante da anatomia do endodonto e de uma possível infecção no sistema de canais radiculares.

Diante do que foi exposto, o presente estudo tem como objetivo comparar a efetividade antimicrobiana do polihexametileno biguanida (PHMB) à da clorexidina, ambos na forma líquida, em sistemas de canais radiculares infectados com *Enterococcus faecalis*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A maioria das doenças pulpares e dos tecidos periapicais está direta ou indiretamente relacionada a produção de microrganismos, por isso que a microbiologia tem recebido destaque na literatura especializada. Caso haja invasão microbiana, ela se dará através do esmalte ou do cimento, túbulos dentinários expostos, cáries dentárias, lesões traumáticas e lesões periodontais. Ainda demonstra-se com bastante relevância, a incapacidade de eliminação de algumas espécies de microrganismos que se mostram resistentes durante a instrumentação do sistema de canais radiculares e também à medicação local e sistêmica, acarretando na perpetuação de processos infecciosos (GABARDO et al., 2009).

As substâncias químicas auxiliares são de fundamental importância para o mecanismo de limpeza e desinfecção do endodonto, utilizadas no processo de instrumentação dos canais radiculares ou até mesmo como medicação intracanal. A clorexidina é usada na endodontia como solução irrigadora ou medicação intracanal, pois possui amplos benefícios, como uma boa atividade antimicrobiana, substantividade, menor citotoxicidade que o hipoclorito de sódio, propriedades de lubrificação, inibe metaloproteinases, é quimicamente estável, não mancha tecidos, inodora, solúvel em água, entre outras propriedades, demonstrando assim, desempenho clínico eficiente. Vale ressaltar que a clorexidina tem sido recomendada como uma alternativa ao hipoclorito de sódio, especialmente em casos de ápice aberto, reabsorção radicular, perfuração radicular e durante a ampliação foraminal, devido à sua biocompatibilidade, ou em casos de alergia ao hipoclorito de sódio. A clorexidina também pode ser aplicada clinicamente como agente antimicrobiano durante todas as fases da preparação do canal radicular, na desinfecção do campo operatório, alargamento dos orifícios dos canais, remoção de tecidos necróticos, no preparo químico-mecânico, como medicamento intracanal combinado ou não a outras substâncias, dentre outros (GOMES et al., 2013).

As soluções aquosas de clorexidina são mais estáveis dentro da faixa de pH 5 a 8, sendo sua atividade antimicrobiana dependente do pH, com faixa ótima de 5,5 a 7,0 (BLOCK, 2001). Seu efeito bactericida é devido à ligação da molécula catiônica a

complexos extra-microbianos e paredes celulares microbianas carregadas negativamente, que alteram assim, o equilíbrio osmótico das células. Em baixas concentrações, as substâncias de baixo peso molecular irão escorrer, resultando em um efeito bacteriostático. Já em concentrações mais elevadas, a clorexidina tem um efeito bactericida devido à precipitação e/ou coagulação do citoplasma de células bacterianas, resultando em morte celular (FARDAL, 1986) e deixando detritos celulares nos canais radiculares que podem ser removidos com uma irrigação vigorosa com água destilada (VIANNA et al., 2006).

O polihexametileno biguanida (PHMB) é uma biguanida polimérica com amplo espectro antimicrobiano contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (CHARONE et al., 2014), sendo utilizado em uma variedade de produtos, incluindo curativos para feridas, soluções de limpeza de lentes de contato, produtos de limpeza perioperatórios e produtos de limpeza de piscinas (ASIEDU-GYEKYE et al., 2015). No campo médico, o PHMB foi recentemente estabelecido como um antisséptico tópico no tratamento de feridas crônicas devido ao seu amplo espectro antibacteriano e baixa citotoxicidade tecidual (HIRSCH et al., 2011), ressaltando também, que apesar de ser um análogo estrutural da clorexidina, o PHMB possui a vantagem de não ter efeitos secundários com relação a coloração dos dentes (CHARONE et al., 2014).

Estudos comprovam que as atividades antibacterianas do PHMB parecem ser devidas, em parte, aos grupos de biguanida que interagem com membranas citoplasmáticas, lipopolissacarídeos e peptidoglicanos da parede celular bacteriana. Esta ligação poderia deslocar o cátion bivalente Ca^{2+} , causando desestabilização da membrana e infiltração celular (Gilbert e Moore, 2005). Além disso, o segmento de hexametileno pode interagir com fosfolípidos na membrana, desestabilizando ainda mais a estrutura da membrana (Broxton et al., 1984). Descobertas recentes demonstraram que o PHMB pode entrar nas células das bactérias e condensar os cromossomos bacterianos (Chindera et al., 2016). Ainda, o PHMB tem uma afinidade com o DNA a qual se acredita ser devido à forte interação eletrostática entre o esqueleto de fosfato negativamente carregado do DNA e o carregador catiônico do polímero PHMB (Firdessa et al., 2015).

2.1 Panorama científico da atividade antimicrobiana da Clorexidina e do PHMB

Cunha et al. (2002), tiveram como propósito avaliar aspectos físico-químicos e microbiológicos do sulfato de cobre a 5% e do polihexametileno biguanida (PHMB) a 1% como soluções desinfetantes em pedilúvio para tratamento de diversas afecções podais em bovinos. As análises microbiológicas realizadas foram a contagem de microrganismos aeróbios ou facultativos mesófilos e anaeróbios mesófilos. Utilizou-se um pedilúvio coberto, com três metros de comprimento e a lâmina da solução desinfetante continha, aproximadamente dez centímetros de profundidade, totalizando um volume de 180 litros. Utilizaram-se como soluções desinfetantes o sulfato de cobre a 5% e o PHMB a 1%, permanecendo cada solução por um período de 21 dias, trocando-se semanalmente após limpeza. Os animais do grupo experimental passaram, diariamente, no pedilúvio e permaneceram em contato com a solução por um tempo médio de três minutos. A avaliação microbiológica foi realizada pela contagem padrão de microrganismos aeróbios ou facultativos mesófilos e anaeróbios mesófilos, obtidas a partir de quatro amostras colhidas das soluções desinfetantes utilizadas no pedilúvio. A contagem microbiológica de até 103 UFC/ml da amostra foi considerada baixa, entre 103 e 104 UFC/ml, como moderada e acima de 104 UFC/ml, elevada. Os resultados obtidos permitiram afirmar que a solução de PHMB a 1% apresentou menores contagens de microrganismos aeróbios ou facultativos mesófilos e anaeróbios mesófilos do que a solução de sulfato de cobre a 5%.

Vianna et al. (2004), objetivaram investigar *In vitro* a atividade antimicrobiana do digluconato de clorexidina em formulações de gel e líquido (0,2%, 1% e 2%) contra vários patógenos endodônticos e compararam os resultados com os do hipoclorito de sódio (0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5,25%). As soluções foram preparadas 24 horas antes do início do experimento, sempre em pequenas porções. Soro fisiológico (0,89%) e natrosol (1%) foram utilizados como controles. Os microrganismos utilizados foram: *E faecalis* ATCC 29212, *C albicans* NTCC 3736, *S aureus* ATCC 25923, *P gingivalis*, *P endodontalis* e *P intermedia*. Todos eles cresceram em 5% de sangue de ovelha - infusão de coração cerebral [BHI] Placas de ágar [Lab M, Bury, Reino Unido] por 48 horas a 37 ° C. A adesão e a normalidade

das amostras foram testadas usando o programa GMC (USP, Ribeira Preto, SP, Brasil), demonstrando que os dados não foram paramétricos. Como resultado, os irrigantes foram classificados do mais efetivo ao menos efetivo na seguinte ordem: 5,25% de NaOCl, 2% de CHX líquido e 1% de CHX líquido (todos 3 no mesmo nível), seguido de 0,2% de CHX líquido e 2% de CHX gel, todos eles demoraram 1 minuto ou menos para eliminar todos os microrganismos testados. O irrigante menos efetivo foi 0,2% de CHX gel, levando até 2 horas para eliminar todos os microrganismos testados. E como resultado à resistência microbiana a todas as soluções testadas, foi encontrado, da mais resistente à menos resistente, na seguinte ordem: *E Faecalis*, seguida de *S aureus* e *C albicans* (mesmo nível) e *P endodontalis*, *P gingivalis* e *P intermedia* (mesmo nível).

Welk et al. (2005), analisaram e compararam um enxaguante bucal à base de polihexametileno biguanida (PHMB) a 0,2%, com uma solução aquosa de clorexidina a 0,12%, 2,0% de polivinil metil éter e ácido maleico / ácido triclosan (Colgate Total Plax s) e um enxaguante placebo 10% de etanol – controle negativo. Dezesesseis voluntários participaram e o efeito antibacteriano foi avaliado pela contagem bacteriana na superfície do dente e mucosa, após a profilaxia profissional e após o primeiro enxágue no dia 1 e antes do exame clínico no dia 5, os dados foram analisados usando ANCOVA com ajuste Bonferroni HSD para comparações múltiplas (UFC por amostra) com um nível de significância $\alpha = 0.05$. Como resultado nas medições de contagem bacteriana na superfície do dente e na mucosa foi obtido que, após um único enxague, não houve diferença entre PHMB, Triclosan e placebo, enquanto que o de clorexidina se mostrou significativamente mais eficaz do que o enxague com placebo. Oito horas após o último enxague, o PHMB mostrou-se mais eficaz do que o placebo e o triclosan, mas menos eficaz quando comparado a clorexidina. Assim, esse estudo mostrou-se consistente com estudos anteriores ao demonstrar que o enxaguante bucal de PHMB inibiu o recrescimento da placa e reduziu a contagem bacteriana oral, indicando que o PHMB pode ser usado como alternativa em aplicações preventivas de saúde bucal.

Rohrer et al. (2010), compararam a atividade antimicrobiana de três novos enxaguantes bucais com a da clorexidina, sendo eles, Octenidol (Schu"lke & Mayr AG), que contém octenidina como agente antimicrobiano; Prontral (B. Braun

Medical), que contém polihexametileno biguanida como agente antimicrobiano; e OralClens (Oraldent), que contém Citroxx como agente antimicrobiano. A solução de digluconato de clorexidina (0,2%) serviu como comparador. Foram testados quatro microrganismos orais comuns, *Streptococcus sanguinis* – DSM 20068; *Streptococcus mutans* – DSM 20523; *Candida albicans* – ATCC 90028 e *Fusobacterium nucleatum* – ATCC 10953. As cepas foram cultivadas em placas de agar sangue Columbia (BBL; Becton Dickinson) suplementadas com 50mL/L de sangue humano, 0,5 mg/L de menadiona e 5 mg/L de hemin a 37° C. A atividade antimicrobiana de cada enxaguante bucal foi avaliada contando a diferença nas densidades bacterianas (ou seja, o número log₁₀ de unidades formadoras de colônias de bactérias) antes e após o processo de desinfecção. Todos os experimentos foram realizados três vezes. Obtiveram como resultado que os enxaguantes bucais que contém octenidina (com FR – fator de redução log₁₀, na faixa de 7.1-8.24 UFC/mL) e polihexametileno biguanida (com FR na faixa de 7.1-8.24 UFC/mL) demonstraram atividade antimicrobiana comparável a da clorexidina (com FR na faixa de 1,03-8,24 UFC/mL), enquanto que o enxaguante bucal contendo Citroxx (Citroxx Biosciences, com FR na faixa de 0,22-1,36 UFC/mL) mostrou uma eficácia antimicrobiana significativamente mais fraca. Em geral, a octenidina e o polihexametileno biguanida foram mais efetivos em concentrações mais baixas. Sendo assim, os enxaguantes bucais contendo o agente antimicrobiano octenidina ou polihexatileno biguanida, podem ser considerados como possíveis alternativas às preparações a base de clorexidina.

Zaugg et al. (2013), compararam a atividade antimicrobiana de polihexametileno biguanida - PHMB - (Prontosan wound gel, Pr) e digluconato de clorexidina (CHX), após aplicação de curto e médio prazo, em relação à capacidade de desinfecção do sistema de canais radiculares pelas pastas de hidróxido de cálcio [Ca (OH) 2]. Sessenta canais radiculares de bovinos imaturos foram infectados com *Enterococcus faecalis*. As soluções foram aplicadas no canal radicular durante 10 minutos (CHX: 10 min e Pr: 10 min) ou 7 dias (CHX: 7d, Pr: 7d e Ca(OH)₂: 7d). No grupo de controle negativo (Co-n), não foi utilizada nenhuma solução. As amostras de dentina foram coletadas e a contagem total de bactérias e unidades formadoras de colônias foi determinada. Os resultados foram analisados através do teste de Kruskal-Wallis com comparação múltipla de Wilcoxon. Observou-se que a aplicação

tanto do PHMB quanto da clorexidina levou a uma redução significativa das UFC em todos os grupos em comparação com o grupo controle (Co-n). Quando comparado com Ca(OH)₂: 7d, CHX: 7d (P = 0,290), CHX: 10 min (P = 0,963) e Pr: 7d (P = 0,095) não revelaram diferenças significativas, mas o Pr: 10 min tinha um valor UFC significativamente superior ao Ca(OH)₂: 7d (P = 0,0004), CHX: 10 min (P = 0,0009) e Pr: 7d (P = 0,0006). Pode-se concluir, dentro das limitações do estudo, que um efeito antimicrobiano suficiente pode ser alcançado após uma aplicação de curto prazo de CHX. O gel Prontosan (PHMB 1%), foi menos eficaz do que 2% da clorexidina, mas apresentou melhores resultados que o hidróxido de cálcio, sendo sua eficácia antibacteriana mais eficiente no período de 7 dias do que quando foi usada por 10 minutos.

Abbaszadegan et al. (2015), através de um estudo *In vitro*, tiveram como um de seus objetivos, comparar a eficácia antimicrobiana do óleo essencial da planta *Ferula gummosa* (OEFG), com o hipoclorito de sódio 5% (NaOCl) e clorexidina 0.2% (CHX). Resumidamente, as culturas bacterianas (ajustadas para 0,5 padrões McFarland) foram adicionadas às placas de agar Muller-Hinton usando um cotonete estéril. Os discos de papel que haviam sido saturados com nossas soluções experimentais (OEFG a uma concentração de 50 µg / mL, 5% de NaOCl e 0,2% de CHX) foram colocados na superfície de agar Mueller-Hinton juntamente com um controle positivo e negativo (100 µL / ML de ampicilina [Merck, Darmstadt, Alemanha] e sulfóxido de dimetilo [DMSO, Merck, Darmstadt], respectivamente). As placas foram avaliadas para as zonas de inibição induzidas após um período de incubação de 24 horas a 37 ° C. Assim, o método de difusão em disco, e um ensaio de susceptibilidade a microdiluição de caldo, foram explorados para avaliar a eficácia antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis* (AGH04), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus mitis* (ATCC 49456) e *Candida albicans* (ATCC 10231). A citocompatibilidade do OEFG foi avaliada em fibroblastos L929 e comparada à de NaOCl e CHX. De acordo com os resultados do teste de difusão do disco, os três irrigantes inibiram significativamente o crescimento de todos os microrganismos examinados em comparação com o grupo controle negativo. O OEFG a 50 µg / mL foi mais eficaz do que os outros medicamentos contra *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. Porém, foi significativamente menos eficaz contra *Streptococcus mitis* do que outros microrganismos testados. E, de

acordo com os resultados do teste de susceptibilidade à microdiluição, todas as soluções apresentaram a mesma atividade inibitória e bactericida contra cada microorganismo. NaOCl foi menos potente contra *Enterococcus faecalis* do que outras soluções. OEFG foi também, bastante eficaz em menor concentração contra *Enterococcus faecalis* em comparação ao NaOCl e a CHX, e também foi mais potente do que CHX contra *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*.

Liu et al. (2015), analisaram e compararam a eficácia antibacteriana de uma nova solução irrigadora, QMix (mistura de agente antimicrobiano de bisbiguanida ou biguanida polimérica, agente quelante de cálcio, solução salina e surfactante) e de outros quatro regimes de irrigação, na redução de *Enterococcus faecalis* dentro de canais radiculares humanos. Foram selecionados sessenta e sete dentes superiores anteriores, que foram imersos em um tubo Eppendorf de polipropileno de 1,5 ml cheio com borracha de silicone e seguiram pra esterilização. Logo após, 5 dentes foram selecionados aleatoriamente para serem cultivados em infusão de cérebro-coração (BHI) a 37 ° C como controles negativos. *E faecalis* (ATCC 29212) foi cultivada durante a noite em caldo BHI para obter uma concentração de 1 x 10⁷ células / mL. Os dentes foram então contaminados com *E faecalis* durante 4 semanas em condições aeróbicas a 37 ° C, com o meio substituído por meio de cultura fresca todo o dia. Em seguida, foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos de acordo com os protocolos de irrigação final: (1) EDTA / NaOCl, 17% de EDTA seguido de 5,25% de NaOCl; (2) EDTA / clorexidina (CHX), 17% de EDTA seguido de 2% de CHX; (3) EDTA / cetrimide (CTR), 17% de EDTA seguido de 2% de CTR; (4) MTAD; (5) QMix; E (6) controle, solução salina a 0,9%. As amostras bacterianas coletadas antes da instrumentação e após a irrigação final foram cultivadas e as unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas, tendo como resultado que, as UFC nos grupos QMix, EDTA / CHX e EDTA / CTR foram significativamente menores do que as do grupo EDTA / NaOCl. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos QMix, EDTA / CHX e EDTA / CTR. MTAD apresentou capacidade mais fraca do que QMix e EDTA / CHX para eliminar *E faecalis*, mas causou uma maior redução na CFU do que EDTA / NaOCl. Concluindo que, a atividade antimicrobiana de QMix foi comparável à do EDTA / CHX e EDTA / CTR e mais eficaz do que a EDTA / NaOCl contra *E faecalis* intracanal.

Davis et al. (2017), relataram descobertas sobre os efeitos de uma solução de irrigação contendo propil-betaída e polihexametileno biguanida (PHMB) para *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) em um tipo de ferida padrão em porcos. Trinta e nove feridas foram criadas com seis feridas atribuídas a um dos seis grupos de tratamento: (i) PHMB, (ii) solução de Ringer, (iii) hipoclorito de sódio, (iv) água estéril, (v) octenidina dicloridrato e (vi) octenilina. As feridas foram inoculadas com MRSA e cobertas com um curativo de poliuretano durante 24 horas para permitir a formação de biofilmes, os curativos foram então removidos e as feridas foram irrigadas duas vezes ao dia durante três dias com a solução apropriada. Os resultados mostraram uma contagem bacteriana inicial de 7.42 ± 0.49 Log UFC/g. No dia 3 as feridas tratadas com PHMB exibiram a maior quantidade de redução nas contagens bacterianas com 5.75 ± 0.47 log UFC/g, os resultados das feridas tratadas com PHMB foram significativamente ($p < 0,05$) menores quando comparados com todos os outros grupos de tratamento, tendo uma diferença de pelo menos 1 UFC log UFC/g. As feridas tratadas com solução de Ringer e hipoclorito de sódio resultaram em resultados semelhantes, tendo 7.87 ± 0.20 and 7.66 ± 0.41 log UFC/g, respectivamente. O grupo de água estéril apresentou a maior quantidade de MRSA em 8.20 ± 0.13 log UFC/g quando comparado com todos os outros grupos de tratamento. Tanto os grupos de dicloridrato de octenidina como os de octenilina apresentaram reduções bacterianas significativas ($p < 0,05$). Os resultados deste estudo de cicatrização de feridas, confirmam a habilidade do PHMB em matar bactérias, preservando o tecido do hospedeiro, sempre se fazendo necessário realizar mais estudos sobre essa substância.

Lakhani (2017), avaliou e comparou a atividade antimicrobiana dos seguintes medicamentos: pasta antibiótica tripla – PAT (50 µg - metronidazol de 400 mg, 50 µg - minociclina de 100 mg, 50 µg - ciprofloxacina de 100 mg), Moxifloxacina (50 mg - moxifloxacina de 400 mg), hidróxido de cálcio [Ca (OH) 2] e 2% de gel de Clorexidina (CHX) na eliminação de *Enterococcus faecalis*. Foram realizados 75 blocos radiculares de dentes humanos, onde o diâmetro do canal foi aumentado usando a broca Gates-Glidden até o tamanho 3 e depois foram contaminados com *E faecalis* por 21 dias. As amostras foram divididas em 5 grupos: Grupo 1: grupo controle negativo; Grupo 2: Hidróxido de cálcio; Grupo 3: Clorexidina, Grupo 4:

Pasta antibiótica tripla (PAT) e Grupo 5: Moxifloxacina. A carga bacteriana foi avaliada contando o número de unidades formadoras de colônias e os dados foram analisados com os testes ANOVA e Post-Hoc para avaliar as diferenças na eficácia antibacteriana entre os grupos ($p = <0,001$). Foi obtido como resultado que, a clorexidina 2% em gel isolou completamente o crescimento de *E faecalis* após um, sete e dez dias, sendo este, o medicamento mais eficaz, mostrando diferenças significativas com relação aos outros em todos os intervalos de tempo. O grupo da pasta antibiótica tripla mostrou um efeito antibacteriano moderado, pois sua diferença em todos os grupos foi significativamente melhor em todos os dias. A moxifloxacina foi mais eficaz do que o hidróxido de cálcio nos dias 7 e 10.

Kamaruzzaman et al. (2017), investigou as atividades antimicrobianas da enrofloxacina, um antibiótico comumente usado em terapia de mastite e polihexametileno biguanida (PHMB), um polímero antimicrobiano. As atividades antimicrobianas foram testadas contra *S. aureus* intracelular, em células Mac-T infectadas (células hospedeiras). O PHMB foi também marcado com fluoresceína e utilizado para estudar a absorção de PHMB e a localização com *S. aureus* dentro das células Mac-T infectadas. As atividades anti-biofilme foram testadas pelo tratamento de biofilmes em *S. aureus* e efeitos de medição na massa de biofilme in vitro. Foi obtido como resultado que a enrofloxacina e PHMB a 15 mg/L eliminaram entre 42% a 92% e 99,9% de *S.aureus* intracelular, respectivamente. Houve interação direta do PHMB com a bactéria dentro das células hospedeiras. Enrofloxacina e PHMB a 15 mg/L reduziram entre 10% a 27% e 28% a 37% da massa de biofilmes, respectivamente. As concentrações inibitórias semi-máximas (IC50) obtidas a partir de um teste de citotoxicidade foram 345 ± 91 e 21 ± 2 mg/L para enrofloxacina e PHMB, respectivamente. Portanto, ambos os compostos foram tolerados pelas células hospedeiras em altas concentrações. Sendo assim, esses achados mostram que ambos os antimicrobianos são eficazes contra *S. aureus* intracelular e podem perturbar as estruturas do biofilme, sendo o PHMB mais potente contra *S. aureus* intracelular, destacando sua potencial aplicação na terapia da mastite.

REFERÊNCIAS

ABBASZADEGAN, Abbas et al. Antimicrobial and cytotoxic activity of Ferula gummosaplant essential oil compared to NaOCl and CHX: a preliminary in vitro study. **Restorative Dentistry & Endodontics**, [s.l.], v. 40, n. 1, p.50-57, 2015.

ADDY, Martin; MORAN, John M.. Clinical indications for the use of chemical adjuncts to plaque control: chlorhexidine formulations. **Periodontology 2000**, [s.l.], v. 15, n. 1, p.52-54, out. 1997. Wiley-Blackwell.

ASIEDU-GYEKYE, Isaac J. et al. Toxicological assessment of polyhexamethylene biguanide for water treatment. **Interdisciplinary Toxicology**, [s.l.], v. 8, n. 4, p.1-10, 1 jan. 2015. Walter de Gruyter GmbH.

BLOCK, Seymour Stanton (Ed.). **Disinfection, sterilization, and preservation**. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

BROXTON, P. et al. Interaction of some polyhexamethylene biguanides and membrane phospholipids in *Escherichia coli*. **Journal Of Applied Bacteriology**, [s.l.], v. 57, n. 1, p.115-124, ago. 1984. Wiley-Blackwell.

CHARONE, SENDA, CARDOSO, CRISTIANE DE ALMEIDA BALDINIKATO, MELISSA THIEMI et al. The effect of mouthwashes containing biguanides on the progression of erosion in dentin. **BMC Oral Health**, v. 14, n. 1, 2014.

CHINDERA, Kantaraja et al. The antimicrobial polymer PHMB enters cells and selectively condenses bacterial chromosomes. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.15-33, 21 mar. 2016. Springer Nature.

CRUZ C., Andréa; ALBUQUERQUE M., Miracy; AGUIAR M., Carlos; Soluções Irrigadoras Utilizadas para o Preparo Biomecânico de Canais Radiculares **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada** [en línea] 2010, 10 (Enero-Abril).

CUNHA, Paulo Henrique Jorge da et al. Avaliação físico-química e microbiológica das soluções desinfetantes de sulfato de cobre a 5% e cloridrato de polihexametileno biguanida a 1% em pedilúvio para bovinos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, [s.l.], v. 9, n. 1, p.17-20, jan. 2002. Editora Cubo Multimedia.

DAVIS, STEPHEN C, HARDING, ANDREW GIL, JOEL et al. Effectiveness of a polyhexanide irrigation solution on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms in a porcine wound model. **International Wound Journal**, v. 14, n. 6, p. 937-944, 2017.

FARDAI, Oystein; TURNBULL, Robert S. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. **The Journal of the American Dental Association**, v. 112, n. 6, p. 863-869, 1986.

FIRDESSA, Rebuma et al. Pathogen- and Host-Directed Antileishmanial Effects Mediated by Polyhexanide (PHMB). **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 9, n. 10, p.1-13, 2 out. 2015. Public Library of Science (PLoS).

GABARDO, M.C.L.; DUFLOTH, F.; SARTORETTO, J.; HIRAI, V.; OLIVEIRA, D.C.; ROSA, E.A.R. Microbiologia do insucesso do tratamento endodôntico. **Revista gestão & saúde** . v. 1, n. 1, p. 11-17. 2009.

GILBERT, P.; MOORE, L.e.. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. **Journal Of Applied Microbiology**, [s.l.], v. 99, n. 4, p.703-715, out. 2005. Wiley-Blackwell.

GOMES, BRENDA P.F.A., VIANNA, MORGANA E.ZAIA, ALEXANDRE A. et al. Chlorhexidine in Endodontics. **Brazilian Dental Journal**, v. 24, n. 2, p. 89-102, 2013.

HIRSCH, Tobias et al. Antimicrobial Activity of Clinically Used Antiseptics and Wound Irrigating Agents in Combination with Wound Dressings. **Plastic And Reconstructive Surgery**, [s.l.], v. 127, n. 4, p.1539-1545, abr. 2011. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

KAMARUZZAMAN, Nor F. et al. Bactericidal and Anti-biofilm Effects of Polyhexamethylene Biguanide in Models of Intracellular and Biofilm of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 8, p.1-10, 11 ago. 2017. Frontiers Media SA.

KRAMER, A. et al. Influence of the Antiseptic Agents Polyhexanide and Octenidine on FL Cells and on Healing of Experimental Superficial Aseptic Wounds in Piglets. **Skin Pharmacology And Physiology**, [s.l.], v. 17, n. 3, p.141-146, 23 abr. 2004. S. Karger AG.

LAKHANI, Ashik Ali. Efficacy of Triple Antibiotic Paste, Moxifloxacin, Calcium Hydroxide And 2% Chlorhexidine Gel In Elimination of E. Faecalis: An In vitro Study. **Journal Of Clinical And Diagnostic Research**, [s.l.], p.6-9, 2017.

LIU, Ying et al. In vitro comparison of antimicrobial effectiveness of QMix and other final irrigants in human root canals. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.1-6, 3 dez. 2015.

LOPES, HELIO PEREIRA, SIQUEIRA JUNIOR, JOSE FREITASELIAS, CARLOS NELSON et al. Substancias quimicas empregadas no preparo dos canais radiculares. [s.l.: s.n., s.d.].

PETERS, O et al. Changes in Root Canal Geometry after Preparation Assessed by High-Resolution Computed Tomography. **Journal Of Endodontics**, [s.l.], v. 27, n. 1, p.1-6, jan. 2001. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

PRETEL, Hermes et al . Comparação entre soluções irrigadoras na endodontia: clorexidina x hipoclorito de sódio. **RGO, Rev. gaúch. odontol. (Online)**, Porto Alegre , v. 59, supl. 1, jun. 2011.

ROHRER, Nadine et al. Antimicrobial Efficacy of 3 Oral Antiseptics Containing Octenidine, Polyhexamethylene Biguanide, or Citroxx: Can Chlorhexidine Be Replaced?. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, [s.l.], v. 31, n. 07, p.733-739, jul. 2010. Cambridge University Press (CUP).

VIANNA, M.E., Horz, H.P., Gomes, B.P.F.A. and Conrads, G. (2006), *In vivo* evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. **International Endodontic Journal**, 39: 484–492.

VIANNA, Morgana Eli et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [s.l.], v. 97, n. 1, p.79-84, jan. 2004. Elsevier BV.

WELK, A. et al. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared with a triclosan rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque re-growth. **Journal Of Clinical Periodontology**, [s.l.], v. 32, n. 5, p.499-505, maio 2005. Wiley-Blackwell.

WIEGAND, Cornelia et al. PH Influence on Antibacterial Efficacy of Common Antiseptic Substances. **Skin Pharmacology And Physiology**, [s.l.], v. 28, n. 3, p.147-158, 2015. S. Karger AG.

ZAUGG, Lucia K. et al. Antimicrobial activity of short- and medium-term applications of polyhexamethylene biguanide, chlorhexidine digluconate and calcium hydroxide in infected immature bovine teeth in vitro. **Dental Traumatology**, Nova Jersey, Eua, p.1-6, 23 jun. 2013.

ZEHNDER, MATTHIAS. Root Canal Irrigants. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 5, p. 389-398, 2006.

3 ARTIGO

AÇÃO ANTIMICROBIANA DE SOLUÇÃO À BASE DE POLIHEXAMETILENO BIGUANIDA NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO

ANTIMICROBIAL POLYHEXAMETHYLENE SOLUTION BIGUANID ACTION IN
ENDODONTICAL TREATMENT

Solução à base de PHMB na endodontia

PHMB Endodontic Solution

**Gabriela de Andrade Lima¹, Luciana Ferraz Gominho², Maria Kaline Romeiro
Teodoro³**

¹Graduanda do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Patos, Paraíba-Brasil.

²Docente do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Patos, Paraíba-Brasil.

³ Docente do curso de Odontologia da Faculdade Osman Lins, Vitória de Santo Antão, Pernambuco-Brasil.

Endereço para correspondência:

Gabriela de Andrade Lima

Laryssa Palmeira, Centro, n.158, Apto 201, Patos- Paraíba, Brasil

E-mail: gabylimaod@gmail.com

RESUMO

O estudo objetivou comparar a eficácia antibacteriana da solução de polihexametileno biguanida (PHMB) a 0,2% e Clorexidina (CHX) a 2% como soluções irrigantes em canais radiculares contaminados. Cinquenta raízes distais de molares inferiores de humanos foram selecionados e distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos: PHMB (N = 20), CHX (N = 20), controle positivo (N = 5) e controle negativo (N = 5). Com exceção do controle negativo, as raízes foram inoculadas com *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) cultivado em meio de cultura *Brain Heart Infusion* (BHI) caldo. Os dentes foram incubados sob 37°C por 4 semanas e BHI foi renovado semanalmente. As amostras foram coletadas usando os cones de papel antes (S1) e após a instrumentação do canal radicular (S2) e submetidas a quantificação por método de cultura. A instrumentação dos canais foi realizada através de instrumento WaveOne Gold Large (45/.05) (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) com irrigação das soluções perfazendo um total de 3 mL por canal. Após o preparo, a coleta S2 seguiu o mesmo padrão que em S1. Qualitativamente, o PHMB resultou em todos os casos com cultura negativa em S2 (100%). O grupo CHX também conseguiu reduzir significativamente os níveis de *Enterococcus faecalis*, apenas um dente apresentou bactérias cultiváveis em S2. Pode-se observar que a solução de PHMB a 0,2% foi bastante eficaz na redução de *Enterococcus faecalis*. O PHMB conseguiu reduzir a zero as contagens bacterianas, mesmo com uma solução em concentração de 0,2%, obtendo padrão de descontaminação semelhante à Clorexidina a uma concentração de 2%.

Palavras-chave: endodontia. clorexidina. enterococcus faecalis.

ABSTRACT

The study aimed to compare the antibacterial efficacy of 0,2% polyhexamethylene biguanide solution (PHMB) and 2% chlorhexidine (CHX) as irrigants against in infected root canals. Fifty distal roots of mandibular human molars were selected and randomly placed in the following groups: PHMB (N=20), CHX (N=20), positive control (N=5) and negative control (N=5). With the exception of negative control, the roots were inoculated with *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) in BHI broth. The teeth were incubated under 37°C for 4 weeks and fresh BHI broth was replaced every week. Samples were collected by using paper points sequentially before (S1) and after (S2) chemomechanical preparation. All bacteriological sample collection were submitted to quantification by culture. The instrument WaveOne Gold Large (45/.05) (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) was used with the irrigants solutions with a total of 3mL per canal. After preparation, S2 followed the same pattern as in S1. Qualitatively, PHMB resulted in all cases with negative culture in S2

(100%). The CHX group also succeeded in significantly reducing *E. faecalis* levels, only one tooth still had detectable bacteria in S2. It could be observed that 0.2% PHMB solution was highly effective in reducing *E. faecalis*. PHMB was able to reduce to zero the bacterial counts, even having a 0.2% concentration, with results as 2% chlorhexidine.

Keywords: endodontics. chlorhexidine. enterococcus faecalis.

INTRODUÇÃO

Os microrganismos cumprem um importante papel na etiologia e manutenção das infecções endodônticas. Estes deverão ser eliminados durante o preparo biomecânico através do uso dos instrumentos endodônticos, com sua ação mecânica, das propriedades físico-químicas e antimicrobianas das soluções irrigadoras auxiliares e pela ação da medicação intracanal¹.

Devido a complexa anatomia dos canais radiculares e o acesso aos mesmos ser limitado, patógenos podem ficar confinados nos túbulos dentinários, acarretando possível proliferação e reinfecção, sendo que, aproximadamente 50% das paredes dos canais permanece não tocadas durante o preparo, resultando em uma limpeza insuficiente². Por esse motivo, deve-se combinar o uso de substâncias químicas associadas ao preparo mecânico, com o intuito de reforçar a desinfecção³. Assim, a utilização de soluções irrigadoras durante o preparo biomecânico torna-se de grande importância para a limpeza e eliminação de microrganismos presentes no interior do sistema de canais radiculares¹.

A solução irrigadora ideal deve exibir forte ação antimicrobiana, possuir capacidade de dissolver material orgânico, ação lubrificante, apresentar baixa tensão superficial e não trazer efeitos citotóxicos que possam lesar os tecidos perirradiculares⁴.

Desenvolvida nos anos 40 pela Indústria Química Imperial na Inglaterra, a clorexidina chegou ao mercado em 1954 como um anti-séptico para ferimentos na pele, foi utilizada primeiramente na Odontologia para desinfecção pré-cirúrgica⁵. Ela vem sendo, já há algum tempo utilizada na Endodontia como solução

irrigadora e medicação intracanal por possuir atividade antibacteriana de amplo espectro, capacidade de adesão ao tecido dentinário, biocompatibilidade, baixa citotoxicidade, principalmente, e substantividade, permitindo desse modo um tempo de atuação prolongado⁶.

Além da clorexidina, pesquisas apontam que o cloridrato de polihexametileno biguanida (PHMB) já conhecido e usado há muitos anos como anti-séptico em medicina, na concentração de 0,04% e 0,12%, mostrou inibir o crescimento da placa e reduzir as contagens bacterianas orais⁷. A citotoxicidade e o potencial de irritação do PHMB mostraram ser consideravelmente menores do que outros anti-sépticos⁸ e recentemente, pode-se constatar que este, exibe um aumento significativo na eficiência antibacteriana com o aumento do pH⁹. Conseqüentemente, o PHMB torna-se uma substância de relevância para ser analisada e testada diante da anatomia do endodonto e de uma possível infecção no sistema de canais radiculares.

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo comparar a efetividade antimicrobiana do cloridrato de polihexametileno biguanida (PHMB) à da clorexidina, ambos na forma líquida, em sistemas de canais radiculares infectados com *Enterococcus faecalis*.

METODOLOGIA

Esta pesquisa foi do tipo exploratória, quantitativa e experimental, realizada na Universidade Federal de Campina Grande.

O presente estudo foi devidamente aprovado no Comitê de Ética e Pesquisa (N. 558.14016.3.0000.5207).

Seleção e preparação dos dentes

Foram selecionadas cinquenta raízes distais de molares inferiores humanos com ápice completamente formados, provenientes do banco de dentes das Faculdades Integradas de Patos – FIP (ANEXO 1). Após exame radiográfico, os

dentes com tratamento endodôntico prévio, calcificação pulpar e/ou reabsorção interna foram excluídos. Em seguida, os canais radiculares foram explorados e padronizados com a utilização de uma lima K-file #15 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) introduzida até o forame apical das raízes distais de todos os dentes e foram irrigados com água destilada.

Com o objetivo de promover uma melhor limpeza final no preparo das amostras e remoção de possíveis restos de tecidos no interior dos canais radiculares, foi realizado banho em cuba ultrassônica (Cristófoli, Paraná, Brasil). A sequência de banhos utilizada foi de hipoclorito de sódio a 2,5%, ácido etilenodiamínico a 17% (E.D.T.A), solução fisiológica 0,09% (NaCl), tiosulfato de sódio a 10% e nova solução fisiológica. Cada solução foi também introduzida no interior dos canais, cada espécimen submergida e realizada agitação durante 4 minutos

Em seguida, os dentes foram armazenados em recipientes contendo meio de cultura de infusão de cérebro e coração (BHI; Difco, Detroit, MI) e submetidos a nova agitação ultrassônica por 1 minuto para liberação do ar preso no interior do sistema de canais radiculares, permitindo assim a penetração do meio de cultura para dentro dos túbulos dentinários.

Após esse procedimento cada dente foi transferido para tubos de ensaios individuais contendo 4mL de BHI e o processo de esterilização ocorreu em autoclave por 20 minutos a 121°C. Todos os espécimes permaneceram em estufa biológica a 37°C por 24h para comprovação do tratamento de esterilização.

Contaminação do sistema de canais radiculares e amostra inicial (S1)

Os dentes foram distribuídos em 2 grupos experimentais (N=20/por grupo), 1 grupo controle positivo (N=5) e seguiram para a contaminação do sistema de canais radiculares. No grupo controle negativo (N=5), não foi realizada a contaminação e os dentes ficaram imersos em BHI estéril até o momento dos procedimentos

metodológicos teste para confirmação da ausência de contaminação durante toda a pesquisa.

Uma suspensão de *E. faecalis* (American Type Culture Collection 29212), proveniente de uma cultura de reserva a 4°C foi preparada, identificada e padronizada na escala 1 de McFarland, sendo injetado 1mL no canal radicular. Os dentes ficaram incubados a 37 °C por 30 dias e tendo a renovação do BHI a cada semana.

Após o período de incubação os espécimes foram removidos dos recipientes de contaminação para realização dos procedimentos teste. Em seguida, foi realizada à desinfecção da coroa e da câmara pulpar com gaze estéril umedecida em clorexidina a 2% e NaCl 0,09%. O canal radicular foi irrigado com 1 mL de NaCl a 0,9% estéril para a remoção de possíveis células não-acopladas. A amostra inicial (S1) foi adquirida com a sequência de pontas de papel absorvente estéreis #15 posicionadas no CT, objetivando permanecer por 1 minuto no canal, e após, foram transferidos para tubos de ensaio contendo 2 mL de NaCl, onde foram imediatamente processados para análise de cultura.

As amostras foram diluídas em NaCl em série de 10 (até 10^{-2} em S1). Em seguida, alíquotas de 100mL foram semeadas em placas de petri contendo meio Mueller Hinton ágar (Difco, Detroit, MI) e incubadas a 37 °C por 48 h. As unidades formadoras de colônia (UFC) crescidas foram contadas e foi estabelecida a quantidade de UFC/mL, levando em consideração o fator de diluição utilizado.

Preparo do canal radicular

Os dentes foram divididos em quatro grupos: CHX – gluconato de clorexidina 2% líquido, grupo PHMB – solução à base de polihexametileno biguanida 0,2% líquido, grupo controle positivo e grupo controle negativo.

Todo o experimento se deu em ambiente estéril dentro de um fluxo laminar. Inicialmente as coroas de cada dente foram descontaminadas com o auxílio de gaze

estéril embebida em gluconato de clorexidina a 2%, sendo finalizada a limpeza com gaze estéril em solução salina. Em seguida os forames apicais foram selados com TopDam (FGM, Santa Catarina, Brasil).

Nos grupos CHX e PHMB, o canal foi irrigado com 0,5mL de gluconato de clorexidina a 2% líquido (Biodinâmica, Paraná, Brasil) e polixametileno biguanida 0,2 % líquido (Polihexam Plus 0,2%, Helianto Farmacêutica LTDA., São Paulo, Brasil) , respectivamente. A exploração foi realizada, em seguida, com a introdução de lima K-flexofile #15 até o comprimento de patência. O preparo do canal foi realizado com instrumento WaveOne Gold Large (45/.05) (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) seguindo orientações do fabricante. A lima foi introduzida no canal até sofrer resistência, sendo realizados 3 movimentos de avanço e recuo com leve pressão apical.

Entre as instrumentações dos terços do canal, as substâncias em teste foram renovadas em 1mL. Após remoção, suas lâminas foram limpas em gaze estéril umedecidas em álcool a 70% e o canal irrigado com 3 mL de NaCl a 0,9%. O volume total utilizado para modelagem de cada canal foi de 3mL de clorexidina ou PHMB e 4mL de soro fisiológico 0,9%.

A coleta S2 foi realizada com o cone de papel absorvente #45 da mesma forma que a descrita em S1, assim como o processamento para análise microbiológica.

Os grupos controles positivo e negativo foram submetidos aos mesmos procedimentos dos grupos experimentais, contudo a solução irrigadora foi apenas o NaCl 0,9%.

A análise dos resultados obtidos foi realizada através da quantificação de Unidades Formadoras de colônia por mL (UFC/mL) antes e após a utilização das substâncias testes.

RESULTADOS

Os resultados obtidos após tratamento tanto com PHMB quanto com CHX como irrigantes do canal radicular seguem de acordo com quadro abaixo (Quadro 1).

Apenas uma amostra do grupo com irrigação por CHX não apresentou redução de 100% da carga microbiana.

Quadro 1: Resultados em unidades formadoras de colônias (UFC/mL) antes (S1) e após (S2) instrumentação do canal radicular com uso de irrigantes CHX e PHMB

CHX			PHMB		
Amostra	S1	S2	Amostra	S1	S2
1	$1,33 \times 10^5$	0	1	$8,96 \times 10^5$	0
2	$9,1 \times 10^5$	0	2	$3,94 \times 10^5$	0
3	$9,27 \times 10^5$	$8,4 \times 10^4$	3	$1,02 \times 10^5$	0
4	$5,9 \times 10^4$	0	4	$5,5 \times 10^4$	0
5	$1,42 \times 10^5$	0	5	$5,7 \times 10^4$	1
6	$7,6 \times 10^4$	0	6	9×10^4	1
7	$4,49 \times 10^5$	0	7	$9,4 \times 10^4$	0
8	$7,51 \times 10^5$	0	8	$5,4 \times 10^4$	0
9	$6,66 \times 10^5$	0	9	$3,68 \times 10^5$	0
10	$1,33 \times 10^5$	0	10	$2,1 \times 10^5$	0
11	$1,32 \times 10^5$	7	11	$5,3 \times 10^4$	0
12	$2,6 \times 10^4$	0	12	$1,96 \times 10^5$	0
13	$3,9 \times 10^4$	0	13	$2,13 \times 10^5$	0
14	$3,73 \times 10^5$	0	14	$2,76 \times 10^5$	0
15	$3,42 \times 10^6$	0	15	1×10^5	0
16	$1,05 \times 10^5$	0	16	$5,51 \times 10^5$	1
17	$5,16 \times 10^5$	0	17	$3,6 \times 10^4$	0
18	$3,1 \times 10^4$	0	18	$4,4 \times 10^4$	1
19	9×10^3	0	19	$7,53 \times 10^5$	0
20	$1,9 \times 10^4$	0	20	$3,1 \times 10^5$	0

DISCUSSÃO

Várias condições anatômicas do endodonto, tais como, diâmetros de túbulos dentinários reduzidos e presença de canais laterais, acessórios, ístmus, formando uma verdadeira rede de sistema de canais radiculares. As avaliações morfológicas demonstram que o diâmetro de um canal lateral, por exemplo, tem seu diâmetro maior (10 a 200 μ m), sendo até três vezes menor que o diâmetro do forame principal nos molares superiores e inferiores¹⁰. Clinicamente, é relevante que, em sua quase totalidade, os canais laterais não sejam passíveis de ser instrumentados¹¹.

A presença de microrganismos nessas áreas é uma realidade dificultando ainda mais o processo de sanificação. Quanto maior o grau de organização da comunidade microbiana instalada no sistema de canais radiculares, maior o seu potencial patogênico e mais difícil será sua eliminação durante a execução da terapia endodôntica. Tem sido demonstrado que, quanto maior a lesão perirradicular, maior é a probabilidade de se encontrar biofilmes bem organizados na porção apical do canal¹². Apesar de uma penetração mais superficial ser o achado mais comum, há regiões em que bactérias são visualizadas em uma profundidade de aproximadamente 300 μ m no interior tubular¹³.

Atualmente os estudos sobre o poder de limpeza dos instrumentos endodônticos têm sido muito explorados. Contudo, fica evidente a impossibilidade de toques nas paredes dos canais radiculares em toda a sua extensão. Mesmo com todas as evoluções da liga de NiTi e do design dos instrumentos ainda 50% das paredes dos canais principais permanecem sem a ação efetiva dos mesmos^{2, 14, 15, 16}. Assim, a ação das soluções irrigadoras com alto poder de descontaminação torna-se de fundamental importância.

Numerosos produtos têm sido utilizados na endodontia como soluções irrigadoras. Uma substância bem estudada é o Digluconato de Clorexidina a 2%, principalmente por sua conhecida ação antimicrobiana^{17, 18, 19, 20, 21, 22}. No entanto, existe uma limitação do seu uso quando combinado ao Hipoclorito de Sódio. Essa associação produz um precipitado de cor castanha que provoca uma descoloração da superfície dentária^{23, 24, 25}.

Da mesma família da Clorexidina, o Polihexametileno Biguanida (PHMB), um polímero catiônico vem sendo bastante difundido e conhecido na área da saúde como um antisséptico com amplo espectro antibacteriano e baixa citotoxicidade tecidual²⁶, revelando também resultados favoráveis como antisséptico oral, com atividade antimicrobiana comparável à da clorexidina^{7, 27, 28}. Ainda, trata-se de uma substância que durante estudo piloto da presente pesquisa, originou substância de cor levemente amarelada, sem manchamento da superfície dentinária quando em associação ao Hipoclorito de Sódio. Por esses motivos, o PHMB despertou interesse para estudos mais aprofundados sobre sua possível utilização na descontaminação do sistema de canais radiculares.

Estudos comprovam que as atividades antibacterianas do PHMB parecem ser devidas, em parte, aos grupos de biguanida que interagem com membranas citoplasmáticas, lipopolissacarídeos e peptidoglicanos da parede celular bacteriana. Esta ligação poderia deslocar o cátion bivalente Ca^{2+} , causando desestabilização da membrana e infiltração celular²⁹. Além disso, o segmento de hexametileno pode interagir com fosfolípidos na membrana, desestabilizando ainda mais a estrutura da membrana³⁰. Portanto, as atividades antimicrobianas do PHMB envolvem vários mecanismos.

Sua ação antimicrobiana tem sido bastante evidenciada através de diversos estudos^{31, 32, 33, 34}. Quando comparado a ação da clorexidina, o PHMB tem se mostrado tão eficiente quanto^{7, 27, 28}. Todos esses resultados corroboram com o encontrado na presente pesquisa, visto que, em todas as amostras pode ser evidenciada redução bacteriana total para análise na luz do canal radicular. Apenas uma amostra mostrou-se com *Enterococcus faecalis* cultiváveis no grupo da clorexidina, o que não teve representação significativa. O que se torna interessante é que respostas semelhantes das soluções testadas foram observadas em concentrações diferentes. Para a clorexidina a concentração utilizada foi de 2%, enquanto o PHMB atingiu as mesmas condições antimicrobianas com uma solução a 0,2%.

Diante dos bons resultados atuais, torna-se importante também, análises futuras relativas à ação dessas substâncias e suas potencialidades em túbulos

dentinários infectados, correlacionando com o tempo de permanência dessas substâncias, principalmente pela propriedade de substantividade que é atribuída tanto à Clorexidina, quanto ao PHMB.

CONCLUSÃO

Diante da metodologia empregada, pode-se concluir que tanto a CHX como o PHMB, foram efetivos na eliminação de *Enterococcus faecalis* em luz do canal radicular, mesmo o PHMB sendo testado em concentração menor do que a CHX.

REFERÊNCIAS

1. Câmara A, Albuquerque M, Aguiar Carlos. Soluções Irrigadoras Utilizadas para o Preparo Biomecânico de Canais Radiculares. Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada. 2010;10(1):127-133.
2. Peters O, Laib A, Gohring T, Barbakow F. Changes in Root Canal Geometry after Preparation Assessed by High-Resolution Computed Tomography. Journal of Endodontics. 2001;27(1):1-6.
3. Pretel H, Bezzon F, Faleiros F, Dametto F. Comparação entre soluções irrigadoras na endodontia: clorexidina x hipoclorito de sódio. RGO, Rev. gaúch. odontol. 2011; 59:1-6.
4. Zehnder M. Root Canal Irrigants. Journal of Endodontics. 2006;32(5):389-398.
5. Addy M, Moran J. Clinical indications for the use of chemical adjuncts to plaque control: chlorhexidine formulations. Periodontology 2000. 1997;15(1):52-54.
6. Lopes H, Siqueira Junior J, Elias C, Lopes H. Substancias quimicas empregadas no preparo dos canais radiculares.

7. Welk A, Splieth C, Schmidt-Martens G, Schwahn C, Kocher T, Kramer A et al. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared with a triclosan rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque re-growth. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005;32(5):499-505.
8. Kramer A, Roth B, Müller G, Rudolph P, Klöcker N. Influence of the Antiseptic Agents Polyhexanide and Octenidine on FL Cells and on Healing of Experimental Superficial Aseptic Wounds in Piglets. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2004;17(3):141-146.
9. Wiegand C, Abel M, Ruth P, Elsner P, Hipler U. pH Influence on Antibacterial Efficacy of Common Antiseptic Substances. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2015;28(3):147-158.
10. Dammaschke, T, Witt, M, Ott, K. Scanning electron microscopic investigation of incidence, location, and size of accessory foramina in primary and permanente molars. *Quintessence Int*. 2004; 35:699-705.
11. Versiani M, Leoni G, Pécora J, Souza Neto M. Anatomia Interna. In: Lopes & Siqueira (Org.) *Endodontia Biologia e Técnica*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 387-416.
12. Ricucci D, Siqueira Jr J. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *Journal of Endodontics*. 2010; 36:1277-1288.
13. Siqueira Jr. J, Rôças I, Lopes H. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surgery Oral Medic Oral Pathology Oral Radiology Endodontic*. 2002; 93:174-178.
14. Aguiar C, Câmara A. Radiological evaluation of the morphological changes of root canals shaped with ProTaper™ for hand use and the ProTaper™ and RaCe™ rotary instruments. *Australian Endodontic Journal*. 2008;34(3):115-119.
15. Atmeh A, Watson T. Root dentine and endodontic instrumentation: cutting edge microscopic imaging. *Interface Focus*. 2016;6(3):20150113.

16. Moradi S, Talati A, Monajem Zadeh A. Centering ability and dentin removal of rotary systems in curved root canals. *Iranian Endodontic Journal*. 2009;4(3):91-95.
17. Lakhani A. Efficacy of Triple Antibiotic Paste, Moxifloxacin, Calcium Hydroxide And 2% Chlorhexidine Gel In Elimination of E. Faecalis : An In vitro Study. *Journal Of Clinical And Diagnostic Research*. 2017.
18. Vianna M, Horz H, Gomes B, Conrads G. In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *International Endodontic Journal*. 2006;39(6):484-492.
19. Noites R, Pina-Vaz C, Rocha R, Carvalho M, Gonçalves A, Pina-vaz I. Synergistic Antimicrobial Action of Chlorhexidine and Ozone in Endodontic Treatment. *BioMed Research International*. 2014;2014:1-6.
20. Rodrigues C, de Andrade F, de Vasconcelos L, Midená R, Pereira T, Kuga M et al. Antibacterial properties of silver nanoparticles as a root canal irrigant against *Enterococcus faecalis* biofilm and infected dentinal tubules. *International Endodontic Journal*. 2018.
21. Duarte P, da Silva P, Rosa R, Montagner F, Duarte M, Kuga M et al. Effect of ethanol on the antimicrobial properties of chlorhexidine over oral biofilm. *Microscopy Research and Technique*. 2018.
22. Nalawade T, Bhat K, Sogi S. Antimicrobial Activity of Endodontic Medicaments and Vehicles using Agar Well Diffusion Method on Facultative and Obligate Anaerobes. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2016;9(4):335-341.
23. Nowicki J, Sem D. An In Vitro Spectroscopic Analysis to Determine the Chemical Composition of the Precipitate Formed by Mixing Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine. *Journal of Endodontics*. 2011;37(7):983-988.
24. Bui T, Baumgartner J, Mitchell J. Evaluation of the Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate and its Effect on Root Dentin. *Journal of Endodontics*. 2008;34(2):181-185.
25. Souza M, Cecchin D, Barbizam J, Almeida J, Zaia A, Gomes B et al. Evaluation of the colour change in enamel and dentine promoted by the interaction between 2%

chlorhexidine and auxiliary chemical solutions. *Australian Endodontic Journal*. 2011;39(3):107-111.

26. Hirsch T, Limoochi-Deli S, Lahmer A, Jacobsen F, Goertz O, Steinau H et al. Antimicrobial Activity of Clinically Used Antiseptics and Wound Irrigating Agents in Combination with Wound Dressings. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2011;127(4):1539-1545.

27. Rohrer N, Widmer A, Waltimo T, Kulik E, Weiger R, Filipuzzi-Jenny E et al. Antimicrobial Efficacy of 3 Oral Antiseptics Containing Octenidine, Polyhexamethylene Biguanide, or Citroxx: Can Chlorhexidine Be Replaced?. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2010;31(07):733-739.

28. Zaugg L, Zitzmann N, Hauser-Gerspach I, Waltimo T, Weiger R, Krastl G. Antimicrobial activity of short- and medium-term applications of polyhexamethylene biguanide, chlorhexidine digluconate and calcium hydroxide in infected immature bovine teeth in vitro. *Dental Traumatology*. 2013;30(4):326-331.

29. Gilbert P, Moore L. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *Journal of Applied Microbiology*. 2005;99(4):703-715.

30. Broxton P, Woodcock P, Heatley F, Gilbert P. Interaction of some polyhexamethylene biguanides and membrane phospholipids in *Escherichia coli*. *Journal of Applied Bacteriology*. 1984;57(1):115-124.

31. Cunha P, Silva L, Fioravanti M, Borges N, Moraes R, Santana A. Avaliação físico-química e microbiológica das soluções desinfetantes de sulfato de cobre a 5% e cloridrato de polihexametileno biguanida a 1% em pedilúvio para bovinos. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. 2002;9(1):17-20.

32. Davis S, Harding A, Gil J, Parajon F, Valdes J, Solis M et al. Effectiveness of a polyhexanide irrigation solution on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms in a porcine wound model. *International Wound Journal*. 2017;14(6):937-944.

33. Chindera K, Mahato M, Kumar Sharma A, Horsley H, Kloc-Muniak K, Kamaruzzaman N et al. The antimicrobial polymer PHMB enters cells and selectively condenses bacterial chromosomes. *Scientific Reports*. 2016;6(1).

34. Roth B, Neuenschwander R, Brill F, Wurmitzer F, Wegner C, Assadian O et al. Effect of antiseptic irrigation on infection rates of traumatic soft tissue wounds: a longitudinal cohort study. *Journal of Wound Care*. 2017;26(3):79-87.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se observar na literatura, já há algum tempo, vários estudos evidenciando a clorexidina como excelente antimicrobiano na endodontia. Diante da necessidade de mais substâncias que venham auxiliar o processo de desinfecção dos canais radiculares, o PHMB mostra-se efetivo, com amplo espectro antimicrobiano, havendo assim, a possibilidade da inclusão do uso dessa substância na endodontia. Visto que, o resultado encontrado no presente trabalho foi de atuação antimicrobiana, frente à *Enterococcus faecalis* presentes em canais radiculares infectados.

Diante da metodologia empregada, evidenciou-se que o PHMB possui ação antimicrobiana semelhante a da clorexidina na desinfecção intrarradicular.

ANEXOS

ANEXO 1 - TERMO DE SOLICITAÇÃO DE DENTES PARA PESQUISA

APÊNDICE D - Termo de solicitação de dentes para pesquisa

FACULDADES INTEGRADAS DE PATOS - FIP
CURSO DE BACHARELADO EM ODONTOLOGIA
BANCO DE DENTES HUMANOS

TERMO DE SOLICITAÇÃO DE DENTES PARA PESQUISA

Eu Reuciana Feuz Fominho, qualificado
como Professora da instituição de ensino Universidade Federal de Campina
solicito ao Banco de Dentes Humanos das FIP, 150 dentes moleares inferiores ^{Grande}.
para desenvolver um trabalho científico intitulado
Ação antimicrobiana de redução a fase de PHMB no tratamento endodôntico
orientação do docente Profa. Reuciana Feuz Fominho.
Outrossim, nos comprometemos a informar a origem dos mesmos quando na fase de
divulgação oral ou escrita da pesquisa.

PATOS-PB, 15 / Julho / 20 17.

Gabriela de Andrade Lima

Assinatura do Pesquisador

Reuciana Feuz Fominho

Assinatura do Professor Orientador

ANEXO 2 - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Correlação microbiológica e microtomográfica em instrumentos rotatórios de níquel-titânio

Pesquisador: MARIA KALINE ROMEIRO TEODORO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 55814016.3.0000.5207

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.640.800

Apresentação do Projeto:

A periodontite apical é causada por microrganismos colonizadores do sistema de canais radiculares, onde para o sucesso do tratamento é importante que a microbiota seja eliminada ou reduzida significativamente em níveis compatíveis com a cura dos tecidos periradiculares. Nenhum sistema de Instrumentação pode render canais radiculares completamente livre de bactérias ou endotoxinas, mas a desinfecção do canal não deve ser focada em uma abordagem mecanicista. A fim de contornar essas limitações, promovendo a limpeza, a desinfecção e, modelando de forma mais previsível, modificações em instrumentos e técnicas têm sido concebidas. O presente trabalho visa avaliar a desinfecção e o preparo de canais mesiais em molares inferiores empregando três sistemas, ProTaper NEXT, WaveOne Gold, Hyflex EDM associados ou não ao uso da XP-endo Finisher por meio de uma correlação entre análise bacteriológica e microtomografia computadorizada.

Objetivo da Pesquisa:

O presente trabalho tem como Objetivo geral:

Avaliar a desinfecção e o preparo de canais mesiais em molares inferiores empregando três sistemas, ProTaper NEXT, WaveOne Gold, Hyflex EDM associados ou não ao uso da XP-endo

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santa Amara

CEP: 50.100-010

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775

Fax: (81)3183-3775

E-mail: comite.etica@upe.br

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Contribuição do Pesquisador: 1.040.000

Finisher por meio de uma correlação entre análise bacteriológica e microtomografia computadorizada.

Tendo como Objetivos específicos:

- Identificar o grau de redução do *E. faecalis* após o preparo do sistema de canais radiculares com os sistemas ProTaper NEXT, WaveOne Gold e Hyflex EDM associados ou não ao uso da XP-endo Finisher;
- Inferir e verificar o grau do desgaste dentinário e desvio apical proporcionado pelos sistemas analisados associados ou não ao uso da XP-endo Finisher durante o preparo;
- Identificar a centralização do preparo após a utilização de cada sistema analisado associado ou não ao uso da XP-endo Finisher;
- Determinar e comparar a correlação entre poder de redução microbiológica e aspectos do preparo do sistema de canais radiculares após uso da XP-endo Finisher;
- Identificar o grau de redução do *E. faecalis* entre o preparo do sistema de canais radiculares com os sistemas pesquisados (ProTaper NEXT, WaveOne Gold e Hyflex EDM) associado a irrigação com o NaOCl;
- Mensurar o tempo empregado no preparo dos sistemas ProTaper NEXT, WaveOne

Gold, Hyflex EDM.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Nessa pesquisa, serão utilizados dentes extraídos e doados pelo banco de dentes da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Portanto, os riscos aos pacientes são indiretos à pesquisa e advindos do ato cirúrgico na remoção dos dentes devido à patologias relacionadas ao sistema estomatognático. Em relação aos pesquisadores, os possíveis riscos de contaminação pela amostra serão eliminados através da esterilização dos dentes e uso de Equipamento de Proteção Individual.

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº
 Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.etica@ufpe.br

Continuação do Parecer: 1.540.000

Benefícios:

A realização desta pesquisa permitirá a classe odontológica um avanço no conhecimento acerca dos sistemas ProTaper NEXT (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK), Hyflex EDM (Coltene/Whaledent, Altstätten, Suíça), WaveOne Gold (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK) e XP-endo Finisher (FKG Dentaire, La Chaux-de-Fonds, Suíça) como instrumentos eficazes na redução bacteriana no preparo do sistema de canais radiculares e por conseguinte, no sucesso da terapia endodôntica, transferindo-se o conhecimento à comunidade científica, indústria e posteriormente aos cidadãos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante e bastante complexa. Não foi observado agravos éticos, pois trata-se de materiais extraídos anteriormente e guardados em bancos de dentes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos obrigatórios foram apresentados, com datas bem atuais.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foi observado pendência nem inadequações. Projeto bem escrito e mesmo complexo, possível de execução.

Considerações Finais a critério do CEP:

O pleno acompanha o parecer do colegiado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_661619.pdf	05/05/2016 11:06:12		Aceito
Outros	CARTADEN.pdf	05/05/2016 11:07:32	MARIA KALINE ROMEIRO TEODORO	Aceito
Outros	CURRICULOPEQUISADORARIESPON SAVEL.pdf	05/05/2016 11:06:51	MARIA KALINE ROMEIRO TEODORO	Aceito
Outros	CURRICULOORIENTADORA.pdf	05/05/2016 11:06:17	MARIA KALINE ROMEIRO TEODORO	Aceito

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº
 Bairro: Santo Amaro CEP: 50.105-010
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.etica@upe.br

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Continuação do Parecer: 1.540.800

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETODOUTORADO.pdf	05/05/2016 11:04:36	MARIA KALINE ROMEIRO TEODORO	Aceito
Outros	TERMODECONCESSAOBANCODEDE NTES.pdf	09/04/2016 18:54:45	MARIA KALINE ROMEIRO TEODORO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	JUSTIFICATIVADEAUSENCIADOTCLE pdf	09/04/2016 18:07:30	MARIA KALINE ROMEIRO TEODORO	Aceito
Outros	CARTEANUENCIALABORATORIOIM ICROBIOLOGICO.pdf	09/04/2016 18:05:46	MARIA KALINE ROMEIRO TEODORO	Aceito
Outros	CARTEANUENCIAFOP.pdf	09/04/2016 18:04:46	MARIA KALINE ROMEIRO TEODORO	Aceito
Outros	TERMODECONFIDENCIALIDADE.pdf	09/04/2016 17:51:09	MARIA KALINE ROMEIRO TEODORO	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTO.pdf	09/04/2016 17:45:08	MARIA KALINE ROMEIRO TEODORO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 19 de Julho de 2016

Assinado por:
Jael Maria de Aquino
(Coordenador)

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº
Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.etica@upe.br

ANEXO 3 – NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA GAÚCHA DE ODONTOLOGIA

Os elementos constituintes do texto devem ser dispostos segundo a sequência apresentada abaixo:

Especialidade ou área da pesquisa: uma única palavra que permita ao leitor identificar de imediato a especialidade ou área à que pertence a pesquisa.

Título: Título: a) título completo em português e inglês ou espanhol, devendo ser conciso, **evitando excesso das palavras, como “avaliação do...”, “considerações a cerca de...”, “estudo exploratório”**; b) short title com até 50 caracteres em português (ou espanhol) e inglês.

Nome dos autores: a) nome de todos os autores por extenso, indicando o Departamento e/ou Instituição a que pertencem (incluindo indicação dos endereços completos de todas as universidades às quais estão vinculados os autores); b) será aceita uma única afiliação por autor. Os autores deverão, portanto, escolher dentre suas afiliações aquela que julgarem a mais importante; c) todos os dados da afiliação devem ser apresentadas por extenso, sem nenhuma abreviação; d) endereço completo para correspondência de todos os autores, incluindo o nome para contato, telefone e e-mail. Observação: esta deverá ser a única parte do texto com a identificação dos autores. **Observação:** esta deverá ser a única parte do texto com a identificação dos autores.

Resumo: a) todos os artigos submetidos em português ou espanhol deverão ter resumo no idioma original e em inglês, **com um mínimo de 150 palavras e máximo 250 palavras**. Os artigos submetidos em inglês deverão vir acompanhados de resumo em português, além do abstract em inglês; b) para os artigos **originais, os resumos devem ser estruturados** destacando objetivos, métodos básicos adotados, informação sobre o local, população e amostragem da pesquisa, resultados e conclusões mais relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicando formas de continuidade do estudo. Para as demais categorias, o formato dos resumos deve ser o narrativo, mas com as mesmas informações; c) não deve conter citações e abreviaturas.

Termos de indexação: correspondem às palavras ou expressões que identifiquem o conteúdo do artigo. Destacar no mínimo três e no máximo seis termos de indexação, utilizando os Descritores em Ciência da Saúde (DeCS) da Bireme.

Introdução: deve ser curta, definindo o problema estudado, sintetizando sua importância e destacando as lacunas do conhecimento que serão abordadas no artigo. Deve conter revisão da literatura atualizada e pertinente ao tema, adequada à apresentação do problema, e que destaque sua relevância. Não deve ser extensa, a não ser em manuscritos submetidos como Artigo de Revisão.

Métodos: os métodos devem ser apresentados com detalhes suficientes para permitir a confirmação das observações, incluindo os procedimentos adotados, universo e amostra; instrumentos de medida e, se aplicável, método de validação; tratamento estatístico.

Em relação à **análise estatística**, os autores devem demonstrar que os procedimentos utilizados foram não somente apropriados para testar as hipóteses do estudo, mas também corretamente interpretados. Os níveis de significância estatística (ex. $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) devem ser mencionados.

Identificar com precisão todas as drogas e substâncias químicas utilizadas, incluindo nomes genéricos, doses e vias de administração. Os termos científicos devem ser grafados por extenso, em vez de seus correspondentes símbolos abreviados. Incluem-se nessa classificação: nomes de compostos e elementos químicos e binômios da nomenclatura microbiológica, zoológica e botânica. Os nomes genéricos de produtos devem ser preferidos às suas respectivas marcas comerciais, sempre seguidos, entre parênteses, do nome do fabricante, da cidade e do país em que foi fabricado, separados por vírgula.

Informar que a pesquisa foi aprovada por Comitê de Ética credenciado junto ao Conselho Nacional de Saúde e fornecer o número do parecer de aprovação. Ao relatar **experimentos com animais**, indicar se as diretrizes de conselhos de pesquisa institucionais ou nacionais - ou se qualquer lei nacional relativa aos cuidados e ao uso de animais de laboratório - foram seguidas.

Resultados: devem ser apresentados com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal, acompanhados de tabelas e/ou material ilustrativo adequado, quando necessário. Não repetir no texto todos os dados já apresentados em ilustrações e tabelas. Dados estatísticos devem ser submetidos a análises apropriadas.

Tabelas, quadros, figuras e gráficos devem ser limitados a seis no conjunto e numerados consecutiva e independentemente com algarismos arábicos, de acordo com a ordem de menção dos dados, e devem vir em folhas individuais e separadas, com indicação de sua localização no texto. É imprescindível a informação do local e ano do estudo. A cada um se deve atribuir um título breve. Os quadros e tabelas terão as bordas laterais abertas. **Os gráficos devem ser enviados sempre acompanhados dos respectivos valores numéricos que lhes deram origem e em formato Excel.**

Os autores se responsabilizam pela qualidade das figuras (desenhos, ilustrações, tabelas, quadros e gráficos), que deverão permitir redução sem perda de definição, para os tamanhos de uma ou duas colunas (7 e 15cm, respectivamente); **não é permitido o formato paisagem**. Figuras digitalizadas deverão ter extensão JPEG e resolução mínima de 300 dpi. Na apresentação de imagens e texto, deve-se evitar o uso de iniciais, nome e número de registro de pacientes. O paciente não poderá ser identificado ou reconhecível nas imagens.

Discussão: deve restringir-se ao significado dos dados obtidos, evitando-se hipóteses não fundamentadas nos resultados, e relacioná-los ao conhecimento já existente e aos obtidos em outros estudos relevantes. Enfatizar os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões derivadas. Não repetir em detalhes dados ou outros materiais já citados nas seções de Introdução ou Resultados. Incluir implicações para pesquisas futuras.

Conclusão: parte final do trabalho baseada nas evidências disponíveis e pertinentes ao objeto de estudo. As conclusões devem ser precisas e claramente

expostas, cada uma delas fundamentada nos objetos de estudo, relacionado os resultados obtidos com as hipóteses levantadas. Evidenciar o que foi alcançado com o estudo e a possível aplicação dos resultados da pesquisa; podendo sugerir outros estudos que complementem a pesquisa ou para questões surgidas no seu desenvolvimento. **Não serão aceitas citações bibliográficas nesta seção.**

Agradecimentos: podem ser registrados agradecimentos, em parágrafo não superior a três linhas, dirigidos a instituições ou indivíduos que prestaram efetiva colaboração para o trabalho.

Anexos: deverão ser incluídos apenas quando imprescindíveis à compreensão do texto. Caberá aos editores julgar a necessidade de sua publicação.

Abreviaturas e siglas: deverão ser utilizadas de forma padronizada, restringindo-se apenas àquelas usadas convencionalmente ou sancionadas pelo uso, acompanhadas do significado, por extenso, quando da primeira citação no texto. **Não devem ser usadas no título e no resumo.**

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, seguindo a ordem em que foram mencionadas a primeira vez no texto, baseadas no *estilo Vancouver*

Nas referências com até seis autores, citam-se todos; acima de seis autores, citam-se os seis primeiros, seguido da expressão latina et al. Os títulos de periódicos devem ser abreviados de acordo com o *List of Journals Indexed in Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>) e impressos sem negrito, itálico ou grifo, devendo-se usar a mesma apresentação em todas as referências.

Não serão aceitas citações/referências de **monografias** de conclusão de curso de graduação, **dissertações**, **teses** e de **textos não publicados** (aulas, entre outros). Livros devem ser mantidos ao mínimo indispensável uma vez que refletem opinião dos respectivos autores e/ou editores. Somente serão aceitas referências de livros mais recentes. Se um trabalho não publicado, de autoria de um dos autores do manuscrito, for citado (ou seja, um artigo no prelo), será necessário incluir a carta de aceitação da revista que publicará o referido artigo.

Citações bibliográficas no texto: utilizar o sistema numérico de citação, no qual somente os números-índices das referências, na forma sobrescrita, são indicados no texto. Deverão ser colocadas em **ordem numérica**, em algarismos arábicos, meia linha acima e após a citação, e devem constar da lista de referências. Se forem dois autores, citam-se ambos ligados pelo "&"; se forem mais de dois, cita-se o primeiro autor, seguido da expressão et al.