

ANÁLISE COMPARATIVA DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS VERDE NA MANOBRA DE IRRIGAÇÃO DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES DURANTE O TRATAMENTO ENDODÔNTICO

Maurício Bitencourt Mariano¹; Neivaldo José Alves de Souza²; Márcia Yoshiko Nakae³

Estudante do Curso de Odontologia; e-mail: mauricio.bitencourtm@yahoo.com.br¹

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: dr.neivaldo@gmail.com²

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: marciayn@umc.br³

Área do Conhecimento: Ciências da saúde

Palavras-chave: Própolis verde; Irrigação e aspiração; Endodontia; *Enterococcus faecalis*.

INTRODUÇÃO

O termo própolis significa defesa da cidade ou da colmeia (*pro* “em defesa de” e *polis* “cidade”), extraída do arbusto *Baccharis dracunculifolia*, popularmente conhecido como alecrim-do-campo, considerado um indicador de solo ácido. A própolis é utilizada pelas abelhas para vedação, reparação mecânica e higienização dos alvéolos antes da postura da rainha e na mumificação de corpos estranhos ao enxame que não possam ser removidos, evitando uma possível infecção dentro da colmeia. O ser humano, desde o antigo Egito já utilizava a própolis como substância medicinal no tratamento de infecções e parte integrante dos unguentos e cremes para embalsamar restos mortais. Além de ser reconhecida por médicos de renome como: Aristóteles, Plínio, Galeno e Dioscorides, contribuidores no desenvolvimento da medicina. Na metade dos anos 80, a própolis ganhou espaço na medicina de forma complementar, tendo como principal importador o Japão (SANTOS, 2002). Estudos têm avaliado o efeito medicinal da própolis nas diversas especialidades da odontologia como cirurgia oral, endodontia, periodontia e na cariologia, onde foi demonstrado que a própolis possui ação antimicrobiana, antiinflamatória, anestésica, antioxidante, antitóxica, imuno-estimuladora, cicatrizante e antitumoral (WANG *et al*, 2012). Sawaya *et al* (2004), analisaram a composição química de diversas amostras de extrato etanólico de própolis (EEP) e encontraram os seguintes componentes: 2,2 dimethyl-6-carboxyethenyl-2H-1-benzopirano; 6-propenoico 2,2-dimethyl-8-prenyl-2H-1-ácido-benzopirânico; 3,5-diprenil-4-ácido-hidroxycinâmico; 3-prenil-4-ácido hidroxycinâmico; ácido caféico; p-ácido cumárico; canferol e muitos derivados ainda não identificados. Um dos principais microrganismos envolvidos neste processo é o *Enterococcus faecalis*. Este anaeróbio facultativo é resistente ao tratamento endodôntico, e a ambientes hipotônicos e hipertônicos, sob falta de nutrientes, além de apresentar mecanismos de aderência às células do hospedeiro. A infecção se projeta através da invasão do microrganismo nos túbulos dentinários, colonizando os canalículos e reinfectando o canal já obturado. Adicionalmente, o microrganismo possui a capacidade de se aderir às fibras colágenas desmineralizadas dos túbulos dentinários, dificultando sua eliminação (FIGDOR *et al*, 2003). Para a supressão do microrganismo no sistema de canal radicular, o hipoclorito é a solução irrigadora mais utilizada no tratamento de dentes com polpa necrosada e infectada, por não apresentar algumas propriedades, como atividade antibacteriana, solvente de matéria orgânica, desodorizante, clareador, lubrificante e detergente (ARIAS *et al*, 2009). Entretanto, há relatos de processos alérgicos decorrentes da

utilização do hipoclorito bem como pode causar necrose tecidual em casos iatrogênicos e adepto sabor residual e aroma desagradável. Devido a estes fatores, há a necessidade de se buscarem novas substâncias que atuem como soluções irrigadoras e com ação antimicrobiana. Outras substâncias são utilizadas como auxiliares no tratamento de infecções persistentes. Porém, a literatura relata casos de resistência do *Enterococcus faecalis* para diversos antibióticos. Sendo assim, substâncias têm sido pesquisadas na intenção de satisfazer os requisitos de uma solução antimicrobiana extraordinária (ALBUQUERQUE *et al*, 2013).

OBJETIVOS

Avaliar a ação antimicrobiana de extrato de própolis verde na manobra de irrigação do sistema de canais radiculares durante o tratamento endodôntico.

METODOLOGIA

As amostras de própolis verde foram extraídas de diferentes colmeias nas regiões de Teixeira e Amparo da Serra-MG. A matéria prima foi armazenada em temperatura ambiente até o momento do processamento. Após a coleta, a própolis foi devidamente pesada, obtendo-se 300g e foi diluída em 1L de álcool cereais, sendo colocada em uma garrafa de 2L de cor verde, para impedir interferências da luz e para permitir o agitação. A própolis foi armazenada em um ambiente escuro por 30 dias e logo após a filtragem, obtendo-se o Extrato Etanólico de Própolis (EEP). **ESTUDO IN VITRO:** Para a realização do estudo in vitro, foi utilizado o teste de halo de inibição, e a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM). O meio de cultura Ágar Brain Heart Infusion (BHI-ágar), foi utilizado para avaliar a ação antimicrobiana (McBride *et al*, 2007). A solução de hipoclorito de sódio a 1,0% foi usada como controle positivo, e salina estéril como controle negativo. A cepa bacteriana de referência utilizada foi o *Enterococcus faecalis*-ATCC 29212. A cepa liofilizada reativada em caldo BHI, obtendo-se uma suspensão das bactérias. O material ficou incubado por 48 horas, a 37°C, e a cultura obtida foi semeada em placas contendo BHI ágar (PAREKH *et al*, 2007). **TESTE DO HALO DE INIBIÇÃO:** Amostras de 30 µl de culturas ativas de *Enterococcus faecalis*, foram incubadas por 24 horas, a 37°C, após este período, a turbidez será ajustada ao tubo 0,5 da escala Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) por diluição em solução salina. Em seguida, 100 µl do inóculo foram semeados em Placas de Petri contendo BHI ágar, para posterior análise do halo de inibição. Discos de papel impregnados com 2, 5 e 10 µl de solução de própolis com diferentes concentrações, colocados de forma equidistante nas Placas de Petri contendo BHI ágar, previamente contaminadas com *Enterococcus faecalis*. Após 24 horas de incubação a 37°C, os resultados foram observados. As soluções de própolis testadas serão de 1%, 2,5%, 5% e 7,5%, que equivalem a 100, 250, 500 e 750 mg de EEP, respectivamente. Discos contendo 2, 5 e 10 µg de hipoclorito de sódio a 1,0% e soro fisiológico foram testados respectivamente (ADELMAN, 2005). **DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM):** Para determinação da atividade bactericida mínima, foram distribuídos 5,0 mL do caldo BHI em 21 tubos e 0,1 ml, 0,25ml, 0,5ml e 0,75ml de solução de própolis que equivalem a 1,0%, 2,5%, 5% e 7,5%. Logo após, foi feita uma diluição seriada, obtendo-se concentrações de própolis entre 1.500 e 1.645 mg/ml. Foi adicionado, em cada tubo, 1 ml de inóculo bacteriano proveniente de uma cultura de 24 horas, ajustado a 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml). Após o período de incubação, 100 µl do inoculo, foram transferidos para placas contendo BHI ágar, e estas, incubadas em microaerofilia a 37°C por 24 horas (AYHAN *et al*, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na determinação da concentração inibitória mínima, foi analisado que houve crescimento bacteriano em todos os tubos, em um período de 24 horas, exceto no controle positivo (Hipoclorito sódio 1%). Porém, na análise de 48 horas o controle positivo também turvou, não demonstrando efetividade. No teste halo de inibição, todas as placas inclusive o controle positivo, houve crescimento bacteriano, os discos foram impregnados com 2 µl de seu respectivo grupo. Porém o controle positivo foi repetido, e também não houve a formação do halo de inibição. Sendo assim, supondo que a quantidade das respectivas substâncias foi insuficiente, foi utilizado discos de papel impregnados com 5 µl, posteriormente seco na estufa a 37°C por 3 horas para eliminação total de solvente residual antes de serem distribuídos na placa, o que não foi feito anteriormente. Foi incluído um novo grupo, onde foi utilizado o Extrato Etanólico de Própolis puro, onde foi verificado um pequeno halo de inibição na análise de 24 horas, não havendo halo de inibição nos outros grupos. Os testes também foram realizados com 10 µl, e também foi utilizado o EEP puro, porém não houve a formação do halo de inibição.

CONCLUSÕES

Apesar da baixa ineficácia da própolis frente aos resultados, houve falta de parâmetros na literatura para determinar a concentração inibitória mínima. Porém, o controle positivo com hipoclorito sódio 1% da marca Asfen, lote: 614, fabricado em março de 2017, também não teve eficácia esperada superior a 24 horas. Novos estudos devem ser realizados para determinar a concentração inibitória mínima.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARIAS, Moliz, M. T; Ferrer, Luque, C. M; Espigares, García, M; Baca, P. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. **J Endod.** v.35, n.5, p.711-4. Maio. 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.01.018>. Acesso em: 14 abril 2016.

ALBUQUERQUE, A. C. L; Pereira, M. S. V; Silva, D. F; Pereira, L. F; Vana, F. A. C; Higino, J. S. The anti-adherence effect of Lippia sidoides Cham. Extract against microorganisms of dental biofilm. **Rev Bras Plantas Med.** v.15, n.1, p.41-6. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000100005>. Acesso em: 14 abril 2016.

ADELMANN, J. Variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante. **Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná.** 2005. Disponível em: <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/academica/article/viewFile/6095/4368>. Acesso em: 05 abril 2016.

AYHAN, H; Sultan, N; Cirak, M; Ruhi, M. Z; Bodur, H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. **Int Endod J.** v.32, n.2, p.99-102. Mar.1999. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10371903>. Acesso em: 12 abril 2016.

FIGDOR, D.; Davies, J. K.; Sundqvist, G. Starvation survival, growth and recovery of Enterococcus faecalis in human serum. **Oral microbiology and immunology**, v. 18, n.

4, p. 234-239, 2003. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1399-302X.2003.00072.x/full>. Acesso em: 14 abril 2016.

CASTRO ML; CURY JA, ROSALEN PL, ALENCAR SM, IKEGAKI M, DUARTE S, *et al.* Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. *Quim Nova.* 2007; 30(7): 1512-6. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000700003>. Acesso em: 26 julho 2016.

DAHLÉNS, G; Samuelsson, W; Molander, A; Reit, C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. **Oral Microbiol Immunol.** 2; v.15, n.5, p.309-12. 2000 Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11154422>. Acesso em: 14 abril FIGDOR, D; Davies, J. K; Sundqvist, G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. **Oral Microbiol Immunol;** v.18 n.4, p.234-9. Ago. 2003. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?db=pubmed...12823799>. Acesso em: 14 abril 2016.

MC, Bride, S. M; Fischetti, V. A; Leblanc, D. J; Moellering, R. C. J; Gilmore, M. S. Genetic diversity among *Enterococcus faecalis*. **PLoS One.** v.2, n.7, p.582. 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0000582>. Acesso em: 14 abril 2016.

PAREKH J; Chanda, S. In vitro antibacterial activity of the crude methanol extract of *Woodfordia fruticosa* Kurz. Flower (Lythraceae). **Braz J Microbiol.** v.38, n.2, p.204-7. 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822007000200004>. Acesso em: 14. abril 2016.

SANTOS, Pereira, Alberto; SEIXAS, Fernando Rodrigues Mathias Silva; DE AQUINO NETO, Francisco Radler. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Quim. Nova,** v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002. Acesso em: 14 abril 2016.

SAWAYA, A; Souza, K. S; Marcucci, M. C; Cunha, I. B. S; Shimizu, M. T. Analysis of the composition of Brazilian propolis extracts by chromatography and evaluation of their in vitro activity against gram-positive bacteria Braz. **J. Microbiol.** P.35. 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822004000100017>. Acesso em: 14 abril 2016.

WANG, Z; Shen, Y; Ma, J; Haapasalo, M. The effect of detergents on the antibacterial activity of disinfecting solutions in dentin. **J Endod.** v.38, n.7, p.948-53. Jul. 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2012.03.007>. Acesso em: 14 abril 2016.