



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

YHALLE BATISTA DE LUCENA

**ESTUDO COMPARATIVO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES
SOLUÇÕES IRRIGADORAS**

CAMPINA GRANDE – PB
2013

YHALLE BATISTA DE LUCENA

**ESTUDO COMPARATIVO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES
SOLUÇÕES IRRIGADORAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Odontologia, da Universidade Estadual da
Paraíba, em cumprimento às exigências
para conclusão.

Orientadora: Prof^a Dr^a Kátia Simone
Alves dos Santos

CAMPINA GRANDE – PB
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

L935e

Lucena, Yhally Batista de.

Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de diferentes soluções irrigadoras [manuscrito] / Yhally Batista de Lucena. – 2013.

58 f. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2013.

“Orientação: Profa. Dra. Kátia Simone Alves dos Santos, Departamento de Odontologia”.

1. Atividade antimicrobiana. 2. Endodontia. 3. Canal radicular. I. Título.

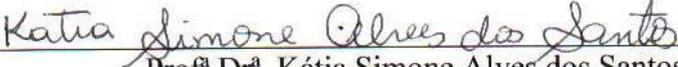
21. ed. CDD 617.634

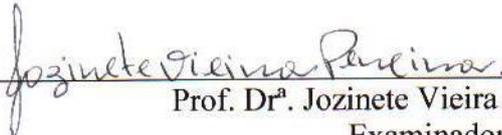
YHALLE BATISTA DE LUCENA

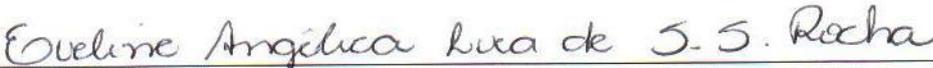
ESTUDO COMPARATIVO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES SOLUÇÕES IRRIGADORAS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Odontologia, da Universidade Estadual da
Paraíba, em cumprimento às exigências
para conclusão.

Aprovada em 25 de novembro de 2013.


Prof.^a Dr.^a. Kátia Simone Alves dos Santos/ UEPB
Orientadora


Prof. Dr.^a. Jozinete Vieira Pereira/ UEPB
Examinadora


CD Mestranda Eveline Angélica Lira de Souza Sales Rocha / UEPB
Examinadora

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, exemplo de vida e força para mim.
Sempre presente nas minhas decisões e apoiando minhas escolhas.
Obrigada por tudo.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por me acompanhar nesta jornada, sempre me iluminando e protegendo.

À minha família, pelo apoio e amor incondicional. Agradeço pelo incentivo, pelos conselhos, enfim, por serem meu porto seguro e exemplo de vida.

Ao meu namorado, Guilherme Alves, pelo amor, paciência e tolerância. Agradeço por me fazer sorrir mesmo nos momentos difíceis.

Aos meus amigos Pedro Henrique, Berenice, Fernanda, Matheus e muitos outros pelos momentos de alegria e descontentamentos compartilhados ao longo do curso.

À minha orientadora e professora Dra. Kátia Simone Alves dos Santos, que me guiou, incentivou e contribuiu para a realização deste trabalho monográfico. Toda a minha admiração, gratidão e respeito.

A professora Jozinete Vieira Pereira e a mestranda Eveline Angélica Lira de Souza Sales Rocha por fazerem parte da banca examinadora desse trabalho.

Ao professor Thúlio Antunes Arruda pela ajuda com o preparo dos extratos hidroalcoólicos da romã e da camomila.

Ao professor Vicente Queiroga da UFCG, por me familiarizar aos estudos com plantas medicinais.

Aos mestres, que repartiram conosco os seus conhecimentos.

A todo o pessoal do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Farmácia da UEPB, que com grande apreço prestaram ensinamentos ao longo do desenvolvimento desse trabalho.

À Coordenação do Curso de Odontologia e a todos os funcionários dessa Instituição, pelos serviços prestados a todos os acadêmicos.

Aos colegas de classe pelos momentos de amizade e apoio.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a concretização deste trabalho, a minha sincera gratidão.

“É preciso entender que cada momento traz uma cobrança, uma fatura pelo que pensamos e fazemos. Nada é de graça na vida, nem o ar que respiramos. Em tudo e por tudo existe trabalho, existem lições, que precisamos assimilar, aprender, tirar proveito da dor, do amor e até do sabor. Somos crianças no Universo tão rico de experiências, e se você entender apenas, que em cada um de nós existem possibilidades infinitas, ninguém vai te derrubar, nem a dor, que é sempre passageira, nem o vento, que sopra forte e vem do mar, que nessa noite traz apenas a brisa para te felicitar: Viva a esperança de estar vivo e poder continuar”.

(Paulo Roberto Gaefke)

RESUMO

Bactérias facultativas como *Enterococcus faecalis* tem sido isoladas de patologias ligadas a canais radiculares, sendo considerada uma das espécies mais resistentes da cavidade oral e uma das possíveis causas de insucesso nos tratamentos endodônticos. O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a atividade de diferentes soluções irrigadoras na eliminação do *Enterococcus faecalis*, durante o preparo químico-mecânico. As soluções irrigadoras utilizadas foram divididas em cinco grupos: G1- hipoclorito de sódio 2,5%; G2 - clorexidina 2%; G3 - extrato de romã - solução pura; G4 - extrato de camomila - solução pura; G5 - vinagre de maçã 5%. Para avaliação da atividade antimicrobiana foram utilizadas cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC) de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). A análise foi realizada pela técnica de difusão em Ágar, método do cilindro, em sistema de bicamada, utilizando o meio de cultura Müeller-Hinton. Este estudo foi realizado no Laboratório de Desenvolvimento de Medicamentos (LABDEM) da UEPB. Após o ensaio microbiológico, as placas de Petri foram incubadas em estufa bacteriológica à 37°C, durante um período de 24 horas. Posteriormente, a leitura dos testes foi realizada medindo-se em milímetro o diâmetro dos halos inibitórios com o auxílio de um paquímetro digital. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados analisados estatisticamente utilizando o teste F (ANOVA) e o teste de Comparações Múltiplas Pareadas. Observou-se que o extrato de camomila não obteve ação antimicrobiana e o extrato de romã apresentou baixa atividade, com média do halo inibitório de 13,15 mm. O vinagre de maçã foi a solução que obteve melhor eficiência na eliminação dos microrganismos com halo inibitório de 22,65 mm, seguida pela clorexidina 2% (21,52 mm) e pelo hipoclorito de sódio 2,5% (20,64 mm). Sendo assim, pôde-se concluir que o vinagre de maçã demonstrou potencial atividade antimicrobiana, representando uma alternativa viável às soluções irrigadoras presentes no arsenal endodôntico no tocante a atividade antimicrobiana.

PALAVRAS-CHAVE: Endodontia, *Enterococcus faecalis*, Irrigantes do Canal Radicular.

ABSTRACT

Facultative bacteria, like *Enterococcus faecalis*, have been dissociated from pathologies related to root canals, as well as been considered one of the most resistant species of the oral cavity and one of the main responsables for endodontical treatment fails. The aim of this study was to evaluate *in vitro* antimicrobial activity of different irrigating solutions across the cultures of *Enterococcus faecalis* during the chemical-mechanical preparation. The irrigating solutions were divided into five groups: G1 - sodium hypochlorite 2,5%; G2 - clorexidin 2%; G3 - pomegranate extract - pure solution; G4 - camomile extract - pure solution; G5 - apple vinegar 5%. To evaluate the antimicrobial activity we have used standard cepas the sort of American Type Culture Collection (ATCC) of *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). The analysis was performed by Ágar diffusion method, the cylinder in the bilayer system, using the culture medium Mueller-Hinton agar, as described in the Pharmacopoeia Brasielira 2nd ed. This study was conducted in the Laboratory of Development Medicines (LABDEM) of UEPB. After the microbiological essay, the plaques the Petri were incubated in a bacteriological stove in a 37°C temperature high, during a period of 24 hours. Following this, the reading of the tests was realized measuring in milimeters the diameter of inhibitory spectrum, with the help of a digital pachymeter. Analyses were performed in triplicate and the results were analyzed statistically using F (ANOVA) and Multiple Paired Comparisons Test. The results have shown that camomile extract does not have any antimicrobial action and that the pomegranate extract has shown low activity, mean inhibitory halo of 13.15 mm. Apple vinegar was the solution which has presented better results in eliminating microorganisms with inhibitory halo of 22.65 mm, followed by cloredixin 2% (21,52 mm) and by sodium hypochlorite 2,5% (20,64 mm). Hence, we could have concluded that the apple vinegar has the actual best potential antimicrobial activity, representing a viable alternative to classical irrigating oral solutions for endodontical treatments, in terms of antimicrobial activity.

KEYWORDS: Endodontics, *Enterococcus faecalis*, Root Canal Irrigation.

LISTA DE FOTOGRAFIAS

FOTOGRAFIA 1	– Fruto da <i>Punica granatum</i> Linn, (romã) ao lado de uma flor.....	25
FOTOGRAFIA 2	– Flores da <i>Matricaria chamomilla</i> Linn. (camomila).....	26
FOTOGRAFIA 3	– Soluções irrigadoras utilizadas na pesquisa.....	30
FOTOGRAFIA 4	– Materiais utilizados e colocados na câmara de fluxo laminar.....	31
FOTOGRAFIA 5	– Placas de Petri após término dos experimentos.....	33
FOTOGRAFIA 6	– Média + desvio padrão do diâmetro do halo inibitório do crescimento de <i>E. faecalis</i> segundo o produto utilizado.....	36
FOTOGRAFIA 7 – a, b	– Representação da atividade antimicrobiana do extrato de romã (solução pura) frente ao <i>E. faecalis</i>	36
FOTOGRAFIA 7 – C	– Representação da atividade antimicrobiana do extrato de romã (solução pura) frente ao <i>E. faecalis</i>	37
FOTOGRAFIA 8 – a, b, c	– Representação da atividade antimicrobiana da clorexidina 2% frente ao <i>E. faecalis</i>	37
FOTOGRAFIA 9 – a, b, c	– Representação da atividade antimicrobiana do extrato de camomila (solução pura) frente ao <i>E. faecalis</i>	38
FOTOGRAFIA 10 – a, b	– Representação da atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio 2,5% frente ao <i>E. faecalis</i>	38
FOTOGRAFIA 10 – C	– Representação da atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio 2,5% frente ao <i>E. faecalis</i>	39
FOTOGRAFIA 11 – a, b, c	– Representação da atividade antimicrobiana vinagre de maçã 5% frente ao <i>E. faecalis</i>	39

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 –	Divisão em grupos das soluções irrigadoras utilizadas no estudo.....	32
TABELA 2 –	Análise com base no diâmetro do halo de inibição do crescimento de <i>E. faecalis</i> segundo a solução utilizada.....	35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1	MICROBIOTA DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES.....	14
2.2	<i>Enterococcus faecalis</i>	16
2.3	FITOTERAPIA NO CONTEXTO ODONTOLÓGICO.....	18
2.4	SOLUÇÕES IRRIGADORAS.....	20
3	OBJETIVO	28
4	MATERIAIS E MÉTODO	29
4.1	DESENHO DO ESTUDO.....	29
4.2	LOCAL DO ESTUDO.....	29
4.3	OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	29
4.4	LINHAGEM BACTERIANA.....	30
4.5	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS SOLUÇÕES FRENTE AO MICRORGANISMO TESTE.....	31
4.5.1	Suspensão microbiana	31
4.5.2	Difusão em placas	32
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
5	RESULTADOS	34
6	DISCUSSÃO	40
7	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

A terapia endodôntica tem como uma das finalidades principais a máxima eliminação de bactérias do sistema de canais radiculares (SCR) que agridem a polpa e os tecidos perirradiculares. Embora fatores físicos e químicos possam estar associados na etiologia das patologias pulpares e periapicais, as infecções bacterianas são as principais responsáveis por tais situações. Estas conseguem manter o processo patológico por um período mais prolongado quando comparado às agressões físicas ou químicas, além de exercerem um papel significativo nas falhas do tratamento endodôntico (ALVES, 2004).

A composição da microbiota presente no sistema de canais radiculares é influenciada por determinantes ecológicos como a presença de oxigênio, disponibilidade de nutrientes, interações bacterianas e do sistema imunológico do hospedeiro (SIQUEIRA JR., 2001). Nos casos de nítida lesão periapical, com infecção endodôntica primária, ocorre o predomínio de microrganismos anaeróbios estritos Gram-negativos (ASSED et al., 1996; GOMES et al., 2004). No entanto, em casos de infecção endodôntica secundária ou persistente, a microbiota endodôntica é alterada, prevalecendo microrganismos anaeróbios facultativos (GOMES et al., 2004; PINHEIRO et al., 2003). Diversos autores concordam que menores índices de sucesso são alcançados quando microrganismos viáveis ainda estão presentes na cavidade pulpar no momento da obturação, e que a chave para o reparo reside na remoção dos fatores irritantes (LIN et al., 1992; SIQUEIRA JR., 2001; SJÖGREN et al., 1997).

A eliminação da infecção endodôntica, ao contrário de outros tecidos do organismo humano, não ocorre unicamente pela ação do sistema imunológico e de antibióticos administrados por via sistêmica. Devido às características anatômicas e fisiológicas complexas da estrutura dentária e do sistema de canais radiculares, a erradicação desta infecção requer uma intervenção local, por meio de instrumentação, irrigação, curativo de demora, obturação tridimensional e selamento coronário (SIQUEIRA JR., 2001; HAAPASALO et al., 2003). Ressalta-se, então, a fase do preparo químico-mecânico (PQM), quando se busca o esvaziamento e o alargamento do SCR, através da interação entre a substância química e o instrumento endodôntico (BORIN et al., 2007).

Para Michelotto et al. (2008), a circulação da solução irrigadora, no interior do canal, durante o ato mecânico, propicia uma melhora considerável na limpeza. Ademais, a ação

química promove o controle e diminuição da quantidade de microrganismos presentes. O uso dessas soluções é um procedimento essencial na remoção de lascas de dentina, evitando sua compactação, lubrificando as paredes dentinárias, facilitando a introdução dos instrumentos endodônticos e auxiliando na desinfecção do sistema de canais radiculares.

É importante salientar que, em muitos casos, não é possível alcançar a eliminação total das bactérias mesmo após a limpeza completa do SCR mediante a ação químico-mecânica de soluções irrigadoras (COLDERO et al. 2002; NACIF; ALVES, 2010).

As soluções de hipoclorito de sódio e clorexidina são bastante utilizadas como soluções irrigadoras por apresentarem, comprovadamente, ação antimicrobiana e toxicidade relativamente baixa (VIANNA et al., 2007). No entanto, algumas bactérias, como *Enterococcus faecalis*, ainda apresentam-se resistentes ao tratamento com essas soluções.

Enterococcus faecalis é a espécie mais frequentemente isolada em casos de insucesso endodôntico, em culturas mistas ou monoculturas (GOMES et al., 2008; ROÇAS et al., 2004). Além da habilidade de formação de biofilme, *E. faecalis* possui diversos fatores de virulência, tais como: enzimas líticas, substância de agregação, adesinas de superfície, ácido lipoteicóico e produção extracelular de superóxido (KAYAOGLU; ORSTAVIC, 2004). A patogênese desta bactéria está relacionada à sua capacidade de penetrar nos túbulos dentinários e aderir ao colágeno, além de sobreviver a extensos períodos de privação nutricional (LOVE, 2001). Desta forma, *E. faecalis* tem sido o microrganismo mais utilizado para a realização de testes antimicrobianos *in vitro* de diferentes soluções irrigadoras, medicamentos e cimentos endodônticos (ESTRELA et al., 2008; MENEZES et al., 2004; STUART et al., 2006).

Como alternativa ao combate das afecções da cavidade oral, a terapia complementar com plantas medicinais apresenta-se como aliada às práticas odontológicas mostrando bons resultados. Este fato justifica a realização de pesquisas adicionais na busca por novas substâncias que apresentem resultados positivos à terapia endodôntica. O presente estudo objetivou avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio, clorexidina, vinagre de maçã, extrato de camomila (*Matricaria recutita* L.) e extrato de romã (*Punica granatum* Linn.) frente ao *Enterococcus faecalis*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Microbiota do sistema de canais radiculares

Das mais de 500 espécies bacterianas presentes na cavidade oral, somente quinze a trinta conseguem colonizar o sistema de canais radiculares (SCR). Diversos são os fatores que influenciam a sobrevivência bacteriana dentro do SCR, tais como o próprio nicho ecológico, a nutrição, presença ou não de oxigênio, pH e ainda a concorrência ou cooperação com outros microrganismos (SUNDQVIST; FIGDOR, 2003).

O tratamento endodôntico além de eliminar diretamente as bactérias, pode desorganizar completamente a ecologia intrarradicular e privar as bactérias persistentes de sua fonte de nutrição (SUNDQVIST, 1992).

Em condições normais, o esmalte e o cimento são os envoltórios naturais dos dentes que protegem o complexo dentino-pulpar das agressões bacterianas proveniente da cavidade oral. Entretanto quando essa proteção é perdida cria-se uma via de invasão microbiana que dependendo dos casos pode vir a atingir a câmara pulpar (LOPES; SIQUEIRA JR., 2004). Segundo estes autores as principais vias de acesso que os microrganismos utilizam para atingir a polpa são: túbulos dentinários, exposição pulpar, periodonto e anacorese hematogênica.

Quando da instalação da infecção radicular, a composição da microbiota do SCR pode variar dependendo do tipo de infecção endodôntica e da lesão perirradicular (CAIRES, 2005).

De acordo com Siqueira Jr. (2002), a infecção endodôntica é dividida em três tipos diferentes: infecção endodôntica primária, secundária e persistente. A infecção endodôntica primária é caracterizada pela presença de necrose pulpar com evidência radiográfica de perda óssea. Nestes casos, o elemento dentário ainda não foi submetido a tratamento endodôntico e apresenta um grande número de espécies bacterianas com predomínio dos anaeróbios estritos Gram-negativos. Estudos que utilizam métodos de cultura microbiológica revelam serem as espécies dos gêneros: *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Campylobacter*, *Selenomonas* e *Actinomyces*, as mais presentes nestas infecções (LOPES; SIQUEIRA JR., 2004).

Pode-se afirmar que as infecções endodônticas primárias são polimicrobianas e os microrganismos presentes são, em grande parte, sensíveis ao tratamento endodôntico de rotina (MIRANDA, 2010).

Quando microrganismos conseguem sobreviver à terapia endodôntica ou quando infectam o sistema de canais radiculares durante o tratamento endodôntico ou após ele, estabelecem-se as infecções persistentes e secundárias, respectivamente (ALVES, 2004). A microbiota aproxima-se muito da infecção primária, pois o tratamento não sendo bem realizado, pouco altera o perfil microbiológico da infecção previamente instalada (SIQUEIRA JR., 2002). Em tais infecções, os fungos podem ser encontrados em quantidade maior que nas primárias (SIQUEIRA JR., 2002; PINHEIRO et al., 2003).

Nas infecções persistentes, embora seja realizada uma adequada instrumentação dos canais radiculares, sabe-se que algumas bactérias podem não ser eliminadas de maneira efetiva. Neste caso, são encontradas poucas espécies bacterianas resistentes, com predomínio de anaeróbios facultativos Gram-positivos (WEIGER et al., 2002).

Em infecções persistentes, alguns microrganismos permanecem no sistema de canais radiculares após o preparo biomecânico, devido a propriedades dos agentes antimicrobianos utilizados ou à vulnerabilidade dos microrganismos envolvidos. Os microrganismos *Enterococcus*, *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Candida*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus* e *Pseudomonas* estão em evidência entre os que determinam e mantêm infecções endodônticas (GOMES et al., 2004; MOLINA, 2008; PINHEIRO et al., 2003).

Pinheiro et al. (2003) isolou e identificou bactérias de cinquenta e uma raízes de dentes com lesões periapicais persistentes. Das espécies microbianas isoladas, *Enterococcus faecalis* foi a mais frequente, chegando a representar de 38 a 70% da composição microbiana do SCR. Anaeróbios obrigatórios representaram 42,6% das espécies e o gênero isolado com mais frequência foi *Peptostreptococcus*, que foi associado à presença ou histórico de sintomatologia dolorosa ($P < 0,01$).

2.2 *Enterococcus faecalis*

Microscopicamente *E. faecalis* caracterizam-se como cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, fermentativos e não esporulados, podendo variar seu tamanho entre 0,5 e 0,8 micrômetros, ocorrendo únicos, em pares ou em cadeias curtas, frequentemente alongados seguindo a direção da cadeia de células. O grupo *Enterococcus* pode ser identificado, bem como outros cocos Gram-positivos, de forma simplificada uma vez que são catalase e oxidase negativa, possuem motilidade variável a depender de cada espécie e comportam-se de forma positiva frente ao cloreto de sódio 5% (ANVISA, mod. V, 2004).

Inúmeros são os fatores de resistência dessa bactéria. A habilidade de formação de biofilme pelo gênero *Enterococcus* permite a colonização de superfícies inertes e biológicas, protege contra agentes antimicrobianos e ação de fagócitos, mediando adesão e invasão de células do hospedeiro (BALDASSARRI et al., 2005).

Além da formação de biofilme, os fatores de virulência mais citados na literatura são a produção de substância de agregação, adesinas de superfície, ácido lipoteicóico, produção extracelular de superóxido, enzima lítica gelatinase e hialuronidase. Cada um desses fatores pode estar associado a vários estágios de infecções endodônticas, bem como a inflamação periapical. As bacteriocinas de *Enterococcus*, por exemplo, AS-48, tem importância na dominância de *E. faecalis* em infecções endodônticas persistentes (KAYAOGLU; ORSTAVIK, 2004).

A habilidade do *E. faecalis* de sobreviver a períodos extensos em ambientes nutricionais limitados representa uma importante característica da patogênese desta espécie em processos patológicos com falhas no tratamento endodôntico (FIDGOR et al., 2003). Para Gomes et al. (2004), a presença do *E. faecalis* em casos de infecções persistentes está relacionada à sua habilidade em invadir os túbulos dentinários e se aderir ao colágeno na presença do soro humano. Kayaoglu e Orstavik (2004) afirmam que, apesar dos canais obturados serem pobres em nutrientes, *E. faecalis* obtém sua nutrição do ácido hialurônico presente na dentina por meio da degradação por hialuronidase, e nos casos de selamentos inadequados do conduto, a entrada de fluidos potencializa a ação de *E. faecalis*. Uma vez ocorrendo contaminação do canal radicular, este microrganismo pode aderir-se a parte mineral da dentina por meio do ácido lipoteicóico e ao colágeno por substância de agregação.

Com relação à ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*, Sassone et al. (2003) observaram em estudo *in vitro* o comportamento das bactérias quando postas em contato com cada solução e repetidas 10 vezes, em diferentes intervalos de tempo: imediatamente, 5 minutos, 15 minutos e 30 minutos após contato e em diferentes concentrações: hipoclorito de sódio (1% e 5%) e clorexidina (0,12%, 0,5% e 1%). Os resultados demonstraram que a solução de clorexidina 0,12% não foi capaz de eliminar as amostras de *E. faecalis* em nenhum intervalo de tempo avaliado enquanto que a clorexidina 0,5% e 1% eliminaram todas as cepas testadas, assim como as duas concentrações de hipoclorito de sódio.

Silva (2007) se propôs a avaliar em estudos longitudinais a eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre *E. faecalis* presente em infecções endodônticas através de revisão sistemática, tendo como fonte de catalogação bibliográfica MEDLINE e Cochrane Library, no período de 1966 até 01 de janeiro de 2007. Dos 229 artigos relacionados, o autor observou que a eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre *E. faecalis* demonstrada *in vitro* por teste de contato direto e nos estudos envolvendo dentina contaminada, tanto o hipoclorito de sódio quanto a clorexidina mostram-se ineficazes sobre *E. faecalis*.

Juliet (2002), com relação à sensibilidade do gênero a antibióticos, relatou que estas bactérias são naturalmente resistentes a estes medicamentos, ou podem adquiri-la em outro momento da vida. Dos antibióticos utilizados na clínica odontológica, destacam-se a cefalexina pertencente ao grupo das cefalosporinas, de resistência natural dos *E. faecalis*, e a ampicilina e amoxicilina, estes últimos do grupo das penicilinas semi-sintéticas, de resistência adquirida, todos classificados como antibióticos β -lactâmicos (WANNMACHER; FERREIRA, 2007).

Diante do exposto fica clara a necessidade de se estudar novas substâncias que consigam combater tal bactéria. Os fitoterápicos por possuírem baixo custo e estarem com maior facilidade ao alcance da população tornam-se foco dos pesquisadores e os resultados dos estudos nos mostram que se trata de uma grande fonte de substâncias viáveis à utilização clínica.

2.3 Fitoterapia no contexto odontológico

As plantas são uma excelente fonte de busca de novas drogas antimicrobianas. Plantas com propriedades terapêuticas são de grande relevância na medicina e em todo o mundo, principalmente nos países em desenvolvimento onde as drogas são de alto custo e muitas vezes inacessíveis a grande parte da população, considerando-se ainda que a diversidade molecular dos produtos naturais seja superior àquela derivada dos produtos de síntese química (PEREIRA et al., 2009).

A fitoterapia é definida como o método de tratamento de enfermidades que emprega vegetais frescos, drogas vegetais, ou ainda, extratos vegetais preparados com esse tipo de matéria-prima. Não é considerada ainda como uma especialidade médica como a homeopatia, mas um método alternativo de tratamento (OLIVEIRA; ASIKUE, 2001).

No Brasil, o conhecimento do valor medicinal de ervas e líquidos era bem maior nas comunidades indígenas, nas quais toda informação era passada dos mais velhos aos mais novos. Hoje, devido ao evento da medicina alopática e degradação de modos e costumes, algumas restrições vêm ocorrendo dentro dessas comunidades (PINTO; MADURO, 2003). Em contrapartida sabe-se que os microrganismos que causam danos à saúde humana estão mais resistentes aos antimicrobianos já conhecidos, contribuindo ao incentivo da procura por medicamentos de ocorrência natural.

O uso de óleos e extratos essenciais de plantas demonstram larga eficiência antimicrobiana contra uma ampla variedade de microrganismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias. Usos práticos dessas atividades são sugeridos em humanos e animais, bem como na indústria de alimentos (DUARTE, 2006).

Na Odontologia, vários estudos são feitos com intuito de conhecer as plantas mais utilizadas pela população contra as doenças odontológicas e os benefícios que estas podem oferecer (DUARTE, 2006). Num levantamento bibliográfico sobre as espécies vegetais mais indicadas na Odontologia, Oliveira et al. (2007) encontraram 132 espécies distribuídas em 52 famílias botânicas citadas como úteis no tratamento de afecções odontológicas. As espécies mais citadas foram *Punica granatum* L., *Althaea officinalis* L., *Salvia officinalis* L., *Calendula officinalis* L., *Malva sylvestris* L., *Plantago major* L.

Neste contexto, a fitoterapia tem evoluído notadamente nos últimos anos e tem estimulado a avaliação de diferentes produtos vegetais com propriedades terapêuticas na Odontologia (COSTA et al., 2008).

Buffon et al. (2001) avaliaram *in vitro* a eficácia dos extratos fluidos de quatro plantas: *Malva sylvestris*, *Calêndula officinalis*, *Plantago major* e *Curcuma zedoarea* no controle da placa bacteriana e as comparou com a solução de clorexidina 2%. Paralelo a isso avaliou os extratos em culturas puras ATCC (American Type Culture Collection) de algumas bactérias encontradas em placa dental: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis* e *Corynebacterium matruchotii*. Os resultados mostraram a ineficácia de todos os extratos contra *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus epidermidis*. A solução de clorexidina 2% (solução controle) apresentou resultado positivo, inibindo o crescimento das bactérias da placa.

Costa et al. (2008) avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato de própolis verde, da pasta Guedes-Pinto (Iodofórmio + PMCC + Rifocort®), do extrato de própolis verde + Rifocort® + Iodofórmio, do Rifocort® + extrato de própolis verde, do Hidróxido de cálcio + extrato de própolis verde, do Hidróxido de cálcio + soro fisiológico, do Iodofórmio + extrato de própolis verde, do Iodofórmio + soro fisiológico; do Rifocort®, do Paramonoclorofenol canforado e do soro fisiológico (controle negativo), contra cepas de *Enterococcus faecalis*. Os autores observaram que o Rifocort®, o Rifocort® com extrato de própolis verde, a pasta Guedes-Pinto, a pasta de própolis verde com Rifocort® e iodofórmio, e o Paramonoclorofenol canforado apresentaram ação antimicrobiana contra o *E. faecalis* significativamente superior quando comparadas com as demais substâncias testadas. Concluíram que a solução de extrato de própolis verde apresentou baixa atividade antimicrobiana contra o *E. faecalis* e o Rifocort® apresentou maior ação antimicrobiana.

Maia Filho et al. (2008) compararam a eficácia de dois irrigantes utilizados no tratamento de canais radiculares, uma medicação intracanal e do extrato de própolis frente à *Enterococcus faecalis*. Foram utilizadas em teste de difusão em Ágar as seguintes substâncias: extrato de própolis produzido pelas abelhas *Scaptotrigona sp.*, hipoclorito de sódio 5%, hidróxido de cálcio e gel de clorexidina 2%. O extrato de própolis apresentou uma boa

atividade antimicrobiana, sendo maior que hipoclorito de sódio 5%, entretanto, o gel de clorexidina foi o mais efetivo contra *E. faecalis*.

2.4 Soluções irrigadoras

Bactérias e seus produtos metabólicos são considerados agentes etiológicos primários da mortificação pulpar e da lesão periapical. Em virtude disso, a eliminação de microrganismos é um dos passos mais importantes na terapia endodôntica (ALVES et al., 2004).

Há um interesse crescente no desenvolvimento de técnicas de instrumentação e de substâncias químicas auxiliares à terapia endodôntica, visando remover as bactérias, substratos e subprodutos bacterianos, uma vez que, os microrganismos no interior do sistema de canais radiculares não podem ser debelados pelas células de defesa do hospedeiro (MIRANDA, 2010).

O processo de sanificação do canal radicular não envolve apenas o canal principal, é imprescindível que este englobe os canais laterais, secundários, intercondutos, deltas apicais e toda a gama de ramificações que o canal possa vir apresentar. Ademais, a própria dentina possui em seu interior túbulos que estão, na maioria das vezes, preenchidos por prolongamentos odontoblásticos e no caso de polpas mortificadas, podem se encontrar contaminados por bactérias (MONTEIRO, 2009).

Portanto, o auxílio de um agente irrigante que alcance essas ramificações do canal radicular é extremamente necessário para remoção de remanescentes teciduais e microrganismos que não podem ser alcançados apenas pelo preparo mecânico (SAKAMOTO et al., 2007; SIQUEIRA JR.; RÔÇAS, 2007). Mohammadi (2008), não encontrou evidências de que a instrumentação mecânica, unicamente, seja capaz de eliminar totalmente os microrganismos dos canais radiculares.

A solução irrigadora ideal deve exibir potente ação antimicrobiana, ter capacidade de dissolver material orgânico, ser lubrificante, apresentar baixa tensão superficial e não apresentar efeitos citotóxicos para os tecidos perirradiculares (ZEHNDER, 2006). As soluções comumente empregadas em Endodontia para a instrumentação dos canais radiculares são:

compostos halogenados, detergentes, quelantes, ácidos, peróxidos e associações ou misturas e outras soluções (EL KARIM et al., 2007).

Dentre estes, os produtos químicos mais utilizados como agentes irrigantes são o hipoclorito de sódio e a clorexidina (VIANNA et al., 2007). Devido à existência de espécies bacterianas resistentes ao tratamento endodôntico realizado com essas soluções irrigadoras, torna-se importante o estudo de novas substâncias com esta finalidade.

Na tentativa de se alcançar uma solução irrigadora efetiva no tratamento endodôntico, Estrela et al. (2004) propôs o uso do vinagre de maçã como solução química auxiliar. Por outra, a diversidade de plantas medicinais existentes na flora brasileira possibilita o estudo de extratos naturais como irrigantes na terapia endodôntica (MOLINA, 2008). Torna-se necessário, portanto, intensificar os estudos nesta área, visto que a real atividade do vinagre de maçã e dos extratos, sobre microrganismos presentes em infecções endodônticas persistentes, ainda não está totalmente esclarecida.

A solução irrigadora antibacteriana usada mais frequentemente é a solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) devido as suas propriedades de clarificação, dissolução de tecido orgânico, saponificação, lubrificação, transformação de amins em cloraminas, desodorização, baixa tensão superficial, bom tempo de meia vida, baixo custo e amplo espectro de ação antimicrobiana (BARATO-FILHO et al., 2004; NAENI et al., 2004; OKINO et al., 2004; SPANÓ et al., 2002). A dissolução do tecido acaba por ajudar na limpeza endodôntica pela transformação de substâncias insolúveis (tecido pulpar e restos necróticos) em substâncias solúveis como os sabões, cloraminas e sais de aminoácidos passíveis de serem aspirados (ESTRELA, 2002).

Para Michelotto et al. (2008), a solução de hipoclorito de sódio possui triplo modo de ação: saponificação de gorduras, habilidade de dissolução de tecido necrótico, atribuída a sua alta alcalinidade e propriedade bactericida, relacionada com a formação do ácido hipocloroso pela liberação de cloro da solução.

Contudo, sua eficácia depende da concentração e do tempo de atuação que são empregados (PINA-VAZ et al., 2011). Observa-se na literatura especializada muita controvérsia acerca da concentração ideal do NaOCl utilizado em Endodontia, variando de 0,5% a 5,5%. Em altas concentrações, como, por exemplo, o NaOCl 5,25%, causam severas irritações aos tecidos periapicais no momento da irrigação dos canais radiculares, além de diminuir o módulo de elasticidade da dentina (MARENDING et al., 2007). A

biocompatibilidade das soluções de NaOCl está inversamente relacionada com sua concentração, ou seja, quanto menor a concentração tanto maior a biocompatibilidade dos NaOCl. Soluções com baixas concentrações, como o NaOCl 1%, apresentam um aceitável comportamento biológico (ESTRELA et al., 2002), além de possuírem atividade antimicrobiana frente a microrganismos resistentes (KALFAS et al, 2001).

Baseado em pesquisas de Zehnder (2006) e El Karim et al. (2007), observa-se que a concentração ideal de uso clínico do NaOCl é a de 1%, com pH próximo a 11, pois concentrações superiores não apresentam melhor capacidade bactericida, ao passo que levam a um maior grau de agressão aos tecidos periapicais (EL KARIM et al., 2007).

Para alguns autores, o hipoclorito de sódio apresenta toxicidade, risco de enfisema, potencial alergênico, gosto e cheiro desagradáveis, é cáustico (CHEUNG; STOCK, 1993; VIANNA et al., 2004; WEBER et al., 2003; YAMASHITA et al., 2003). Ainda segundo ONÇAG et al., (2003), é citotóxico quando em contato com os tecidos periapicais e apresenta-se como uma ameaça durante o tratamento endodôntico de dentes decíduos, devido seu efeito tóxico na região apical e nos tecidos periodontais.

Entre as alternativas ao hipoclorito de sódio está a clorexidina, que tem se mostrado um agente antimicrobiano efetivo no interior dos canais radiculares, com potencial para ser empregado como irrigante ou medicamento intracanal. Segundo Stuart et al. (2006) e Zehnder (2006), a clorexidina vem se tornando a solução irrigadora de eleição nas fases de preparo químico-mecânico do canal radicular.

O amplo espectro de ação antimicrobiana se deve ao fato de a clorexidina ser uma molécula com carga positiva, capaz de ligar-se a superfície bacteriana carregada negativamente, por ação eletrostática, promovendo adsorção na superfície bacteriana e uma alteração no equilíbrio osmótico bacteriano (DAMETTO et al., 2005; VIANNA et al., 2004). Em concentrações mais elevadas, a clorexidina torna-se bactericida, causando a precipitação ou coagulação dos constituintes intracelulares (VIANNA et al., 2004). De acordo com Lee et al. (2008), a carga positiva da molécula de clorexidina é adsorvida na dentina, o que previne a colonização bacteriana dentro dos túbulos dentinários, evitando assim casos de reinfecção após a obturação do canal radicular.

A ação antimicrobiana associada à relativa ausência de toxicidade da substância, a torna eficiente como solução irrigadora e medicação intracanal no tratamento de canais radiculares. Pode ser indicada nos casos de hipersensibilidade ao hipoclorito de sódio e em

dentos com rizogênese incompleta, em que a irrigação com hipoclorito de sódio poderia levar ao extravasamento do irrigante para além do ápice e induzir excessiva inflamação periapical (CAMARGO et al., 2008; PÉCORA, 2004). A substantividade (grande atividade residual) apresentada pela clorexidina é uma propriedade bastante relevante, uma vez que a substância permanece agindo no interior do canal por um período prolongado, mantendo os níveis de desinfecção mesmo após o preparo do canal (DAMETTO et al., 2005; KHADEMI et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007; ONÇAG et al., 2003; WANG et al., 2007).

Siqueira Jr. e Rôças (2007) realizaram um estudo *in vivo* com o objetivo de comparar a ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio 2,5% e a clorexidina 0,12%. As soluções foram avaliadas em canais infectados de 16 dentes com inflamação periapical crônica. Os resultados mostraram que as duas soluções diminuíram o número de microrganismos do canal radicular, não havendo diferença entre elas quanto ao efeito antimicrobiano.

Ercan et al. (2004) avaliaram através de um estudo *in vivo* a atividade antibacteriana proporcionada pela solução de clorexidina 2% e pelo hipoclorito de sódio 5,25%, utilizados como agentes irrigantes durante o preparo químico-mecânico. Amostras bacterianas foram coletadas antes e imediatamente após o preparo biomecânico. Os resultados mostraram que ambas as soluções foram significativamente efetivas na redução dos microrganismos presentes em dentes com necrose pulpar e/ou patologia periapical, podendo ser utilizadas, com sucesso, como substâncias químicas auxiliares.

Estrela et al. (2003) analisaram o efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio 2% e da clorexidina 2% pelo teste de difusão em Ágar e exposição direta frente a cinco cepas de microrganismos em culturas puras e culturas mistas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*). A melhor atividade antimicrobiana ao teste de exposição direta foi do grupo do hipoclorito de sódio e da clorexidina. Vale salientar que, o efeito antimicrobiano foi influenciado pelos métodos experimentais, indicadores biológicos e tempo de exposição.

O vinagre de maçã, conhecido também como vinagre de cidra, é obtido a partir da polpa da maçã, através de fermentação acética. O álcool etílico, produzido nesse processo, é oxidado e transformado em ácido acético, sob ação do ar e de microrganismos específicos. É constituído por ácido acético, frutose, ácido málico, etanol, ácido láctico, ácido fórmico, ácido succínico, acetoína, acetato etílico e ácido cítrico (CALIGIANI et al., 2007). Contém ainda, pectina e betacaroteno, capazes de atacar os radicais livres que interferem na imunidade do

corpo humano. O ácido maléico é um dos componentes que conferem suas propriedades terapêuticas (ESTRELA et al., 2005; IRALA et al, 2009; THACKER, 2000).

O uso do vinagre de maçã tem sido cogitado para atuar como solução auxiliar no preparo químico-mecânico dos canais radiculares, uma vez que, apresentou resultados promissores quando comparado a soluções como o EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) e o hipoclorito de sódio (COSTA et al., 2008).

Alguns estudos comprovaram a ação antimicrobiana do vinagre de maçã, assim como sua capacidade desmineralizadora e de remoção da camada de smear layer, abrindo os túbulos e aumentando a permeabilidade das paredes dentinárias (BARROS et al., 2008; CORRÊA et al., 2002; ESTRELA et al., 2005; ESTRELA et al., 2007; PRATI et al., 2003; ZANDIM et al., 2004). Desta forma, pode-se considerar que o vinagre de maçã possui atuação semelhante ao EDTA quando em contato com tecido mineralizado, além de apresentar uma boa relação custo-benefício (COSTA et al., 2008).

Estrela et al. (2005) comprovaram a efetividade de vários tipos de vinagre em relação à capacidade antimicrobiana sobre o microrganismo *E. faecalis*. O melhor resultado obtido foi observado com o vinagre de maçã.

Os resultados do estudo de Kirchoff (2009) também mostraram que o ácido acético e o ácido málico, constituintes do vinagre de maçã, apresentam potencial para remoção da camada de smear layer. No entanto, o autor atenta para a realização de novos estudos variando a concentração, pH e sua associação com outras substâncias, o que pode conduzir para formulação de uma nova solução efetiva no tratamento endodôntico.

A *Punica granatum* Linn. (romã), da família Punicaceae, é originária do nordeste da Índia e mundialmente cultivada nas regiões de clima tropical e subtropical (NEGI; JAYPRAKASHA, 2003). É usada sob diferentes formas de preparação, no tratamento de processos infecciosos internos e externos (MARÇAL et al, 2011).

Toda a planta contém, entre os seus princípios ativos, tanino em grande quantidade (em torno de 22% a 25% de ácido punicotânico). Seus alcaloides possuem propriedade digestiva, espasmolítica, anti-diarreica e anti-helmíntica e a pelieterina possui ação tóxica específica contra a tênia. Os alcalóides pelieterina e isopelieterina estão presentes de 0,3% a 0,9% nas cascas da raiz e do fruto. A casca do fruto também contém tanino e alcalóides, além de substâncias com ação antibiótica. Possui também atividade antisséptica, antiviral e adstringente. É empregada popularmente no tratamento de dores de garganta, rouquidão,

inflamação da boca. Do pericarpo, rico em taninos, foram isoladas granatinas A e B, punicalagina e punicalina, sendo estes os principais responsáveis pela atividade antimicrobiana (BIALONSKA et al., 2009; FENNER et al., 2006; HOLETZ et al., 2002; JAFRI et al., 2000; JURENKA, 2008; MACHADO et al., 2002).

A atividade antimicrobiana da romã tem sido objeto de pesquisadores (MENEZES, 2004; PEREIRA et al. 2006; VASCONCELOS et al., 2006). Segundo Machado et al. (2002), o tanino elágico punicalagina é responsável pela atividade antimicrobiana. De acordo com Machado et al. (2003) e Naz et al. (2007), os microrganismos são afetados pelo tanino através de uma reação específica que ocorre entre este composto e o sulfidril, componente presente em proteínas.



Fotografia 1 – Fruto da *Punica granatum* Linn. (romã) ao lado de uma flor.
Fonte: MELO, (2008).

Pereira et al. (2001) avaliaram a ação antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da casca da romã frente a *Streptococcus mitis* e *Streptococcus sanguis*. Os resultados mostraram atividade do extrato da romã semelhante ao encontrado para clorexidina 0,12%. Menezes et al. (2004) constataram que o extrato hidroalcoólico da romã também apresentou ação antimicrobiana semelhante a da clorexidina.

Pereira et al. (2006) avaliaram a ação antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da casca do fruto da romã sobre linhagens bacterianas de *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus casei*. Os resultados mostraram a potencialidade da *P. granatum* na inibição do crescimento bacteriano, sugerindo o emprego do extrato da romã como meio alternativo no controle desses microrganismos.

Melo (2008) avaliou *in vitro* a capacidade antimicrobiana e a citotoxicidade do extrato de *Punica granatum* L. associado ou não ao hidróxido de cálcio sobre o *Enterococcus faecalis*. Verificou-se que o extrato puro e a diluição 1:2 se mostraram efetivos com relação à atividade antimicrobiana, porém, quando puro, apresentou-se citotóxico a macrófagos provenientes de rato, todavia, a associação formada pela diluição 1:2 do extrato com o hidróxido de cálcio P.A demonstrou-se biocompatível, possibilitando, por conseguinte, potencial para ser utilizada como medicação intracanal.

Até o presente momento, são escassos os trabalhos do extrato de romã em Endodontia. No entanto, tem sido avaliado em outras áreas da Odontologia. Segundo Pereira et al. (2006) essa substância tem mostrado uma ação antimicrobiana eficaz frente a bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas.

Enquanto o conhecimento popular tem consagrado *Matricaria recutita* Linn. (*Matricaria chamomilla* L., *Chamomilla chamomilla* e *Matricaria suaveolens*) popularmente conhecida como camomila, como um eficaz anti-inflamatório, a literatura científica vem confirmando esse conhecimento até então empírico e instintivo. É uma erva popular, aromática, pertencente à família Asteraceae, originária da Europa e cultivada em todo o mundo, inclusive no Brasil (PARENTE; ROSA, 2001). Esta planta vem sendo utilizada, há séculos, na medicina popular por suas propriedades sedativa, antioxidante, cicatrizante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antifúngica e antígenotóxica (MCKAY; BLUMBERG, 2006).



Fotografia 2 – Flores da *Matricaria chamomilla* Linn. (camomila).

Fonte: <http://www.wildflowers.co.il/english/plant.asp?ID=337>, acessado em 18.10.2013.

A camomila apresenta uma variedade de flavonóides ativos, bem como seu óleo volátil azuleno, que é rico em terpenóides, como o alfa-bisabolol e o camazuleno. Esses constituintes propiciam a atividade anti-inflamatória, cicatrizante e antibacteriana da camomila. Os flavonóides agem inibindo a liberação de histamina, enquanto o bisabolol pode promover a formação de tecido de granulação na cicatrização de feridas (CRAIG, 2001; WEBER et al., 2008).

Vários estudos com a camomila mostraram suas propriedades anti-inflamatória, antimutagênica, hipocolesterolêmica (SRIVASTAVA; GUPTA, 2007), atividade estrogênica, inibem aftas de estomatites e úlceras orais induzidas por metotrexato, efeito antipruriginoso e antiulcerogênico (SHIVANANDA et al., 2007). Previne a hiperglicemia e complicações do diabetes, assim como possui atividade antioxidante no modelo de descoloração do β -caroteno (KATO et al., 2008).

O infuso de camomila tem sido empregado em processos inflamatórios e infecciosos da cavidade oral, em casos de estomatites, gengivites e aftas. É ainda utilizado para halitose sob a forma de bochechos ou em formulações dentifrícias (BARRETO et al., 2005; DRUMOND et al., 2004; PAIXÃO, 2002). O extrato de camomila apresenta potencial atividade antiaderente *in vitro* sobre linhagens de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* e *Lactobacillus casei*, principais microrganismos responsáveis pela consolidação do biofilme dental (ALBUQUERQUE et al., 2010). Assim como o extrato de romã, não há trabalhos sobre o uso do extrato de camomila em Endodontia, embora essa substância esteja sendo testada em outras áreas da Odontologia.

3 OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de diferentes soluções irrigadoras frente à culturas de *Enterococcus faecalis* durante o preparo químico-mecânico.

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo experimental do tipo microbiológico, no qual avaliou-se a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio 2,5%, clorexidina 2%, vinagre de maçã 5% e dos extratos hidroalcolicos da *Punica granatum* Linn. e *Matricaria recutita* L. sob solução pura frente a culturas de *Enterococcus faecalis*.

4.2 LOCAL DO ESTUDO

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Desenvolvimento de Medicamentos (LABDEM), do Departamento de Farmácia, da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, no período de fevereiro a junho de 2012.

4.3 OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Para realização deste estudo foram utilizadas as substâncias a seguir: vinagre de maçã 5%, hipoclorito de sódio 2,5%, clorexidina 2%, extrato de romã e extrato de camomila em solução pura (fotografia 3).

O vinagre de maçã 5% (Senhor Viccino®) e o hipoclorito de sódio 2,5% (Brilux®) foram adquiridos em estabelecimento comercial situado na cidade de Campina Grande - PB.

A clorexidina 2% foi adquirida na Farmácia de Manipulação Pharma Face Formulações e Cosméticos, localizada no município de Campina Grande - PB.

As amostras de romã (*Punica granatum* L.) e de camomila (*Matricaria recutita* L.) foram adquiridas em estabelecimento de ervas situado na cidade de São Paulo - SP, sob registro no Conselho Regional de Farmácia nº 20505. Os extratos hidroalcoólicos foram preparados no Laboratório de Fitoterapia da UEPB, seguindo as recomendações da Farmacopéia Brasileira 2ª ed. (1959).



Fotografia 3: Soluções irrigadoras utilizadas na pesquisa.

4.4 LINHAGEM BACTERIANA

No presente estudo, para avaliação da atividade antimicrobiana das referidas soluções e dos extratos obtidos, a partir das espécies vegetais coletadas, foi utilizada a linhagem bacteriana padronizada American Type Culture Collection (ATCC) de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), a qual foi disponibilizada pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ - RJ). As cepas liofilizadas foram reativadas, em câmara asséptica, seguindo as recomendações da referida Fundação.

4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DAS SOLUÇÕES FRENTE AO MICRORGANISMO TESTE

Para a realização dos testes antimicrobianos, foi realizada a metodologia de difusão em Ágar, método do cilindro, em sistema de bicamada, conforme descrito na Farmacopéia Brasileira 5ª ed. (2010). Todo o procedimento foi realizado sob câmara de fluxo laminar e a manipulação dos materiais se deu com instrumentos estéreis (Fotografia 4).



Fotografia 4: Materiais utilizados e colocados na câmara de fluxo laminar.

4.5.1 SUSPENSÃO MICROBIANA

O inóculo microbiano teste utilizado, foi obtido e padronizado antes do uso, conforme descrito no CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI, 2009) e na Farmacopéia Brasileira 5ª ed. (2010). Assim, após o crescimento do microrganismo, com culturas recentes de 24 horas, diluiu-se a suspensão preparada em solução salina estéril, de modo a obter a absorbância de 0,08 a 0,1, no comprimento de onda de 625 nm, em fotolorímetro (COLEMAN), modelo 35D, em tubos de ensaio de 13 mm de

diâmetro, com a finalidade de se obter um preparo microbiano com concentração final entre $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

4.5.2 DIFUSÃO EM PLACAS (SCREENING)

Nesse ensaio, geralmente utilizado como teste preliminar, observa-se a sensibilidade das soluções e extratos hidroalcoólicos sobre o crescimento de microrganismos.

A camada base foi distribuída através da adição de 20 mL do meio de cultura Ágar Müeller-Hinton, fundido nas placas de Petri de 100 mm de diâmetro, de maneira uniforme. Posteriormente foram colocadas em superfície nivelada para assegurar que a camada de meio tenha profundidade uniforme e realizado o teste de esterilidade.

A partir da suspensão microbiana, foi preparada a camada semeada, ou seja, a de superfície, numa proporção de 1 mL da suspensão bacteriana para 100 mL do meio de cultura, antes resfriado a 48-50°C. O frasco foi agitado por rotação, para obter-se suspensão homogênea. Em cada placa de Petri, foram adicionados sobre a camada base, 5 mL da camada de superfície.

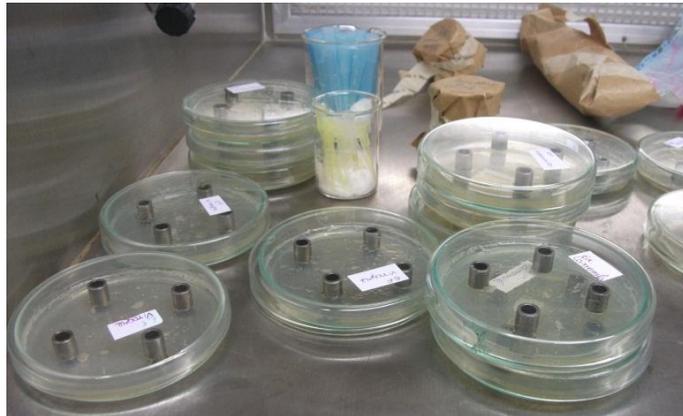
Com as duas camadas de meio uniformemente sobrepostas e já solidificadas, foram colocados sobre a superfície do meio, os quatro cilindros de aço inoxidável, com diâmetro externo de $8 \pm 0,1$ mm, diâmetro interno de $6 \pm 0,1$ mm e comprimento de $10 \pm 0,1$ mm.

Um volume correspondente a 100 µL de cada solução e de cada extrato produzido foram distribuídos em cada cilindro. As seguintes soluções e extratos foram utilizados:

Tabela 1: Divisão em grupos das soluções irrigadoras utilizadas no estudo.

Grupos	Soluções
I	hipoclorito de sódio 2,5%
II	clorexidina 2%
III	extrato de romã
IV	extrato de camomila
V	vinagre de maçã 5%

As análises foram realizadas em triplicata. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C, durante um período de 24 a 48 horas (fotografia 5).



Fotografia 5: Placas de Petri após término dos experimentos.

Após o período de incubação, a leitura dos testes foi realizada medindo-se em milímetros o diâmetro dos halos inibitórios ao redor do cilindro com o auxílio de um paquímetro digital. Foi considerada como possuidora de atividade antimicrobiana, aquela solução ou extrato que quando aplicado sobre o meio de cultura, contendo a suspensão do microrganismo, apresentou um halo de inibição de crescimento, caracterizado por uma zona de clareamento, igual ou superior a 10 mm de diâmetro. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados estatisticamente através de cálculos de média e desvio padrão, utilizando o teste F (ANOVA) e o teste de Comparações Múltiplas Pareadas.

5 RESULTADOS

As médias dos diâmetros dos halos inibitórios do crescimento bacteriano proporcionado pelas soluções irrigadoras avaliadas estão expressas na tabela 2, assim como as análises estatísticas feitas com base nos diâmetros dos halos inibitórios.

As soluções irrigadoras que apresentaram maior atividade antimicrobiana perante a espécie bacteriana estão apresentadas em ordem decrescente: vinagre de maçã 5%; clorexidina 2%; hipoclorito de sódio 2,5% e extrato de romã. Na tabela 2 destaca-se que a média do halo inibitório foi nula para o extrato de camomila.

O teste F (ANOVA) mostra a existência de diferenças significativas entre os grupos e através do teste de Comparações Múltiplas Pareadas (entre todos os pares de grupos) com exceção dos três grupos “vinagre de maçã”, “clorexidina” e “hipoclorito de sódio”, se comprova diferença significativa entre os demais pares de grupos.

A variabilidade expressa através do coeficiente se mostrou reduzida desde que o maior valor da referida medida foi 13,52% (< 30%) em 4 grupos. O grupo extrato de camomila não apresentou variabilidade, levando-se em consideração que todos os valores foram nulos.

Tabela 2 – Análise com base no diâmetro do halo de inibição do crescimento de *E. faecalis* segundo a solução utilizada.

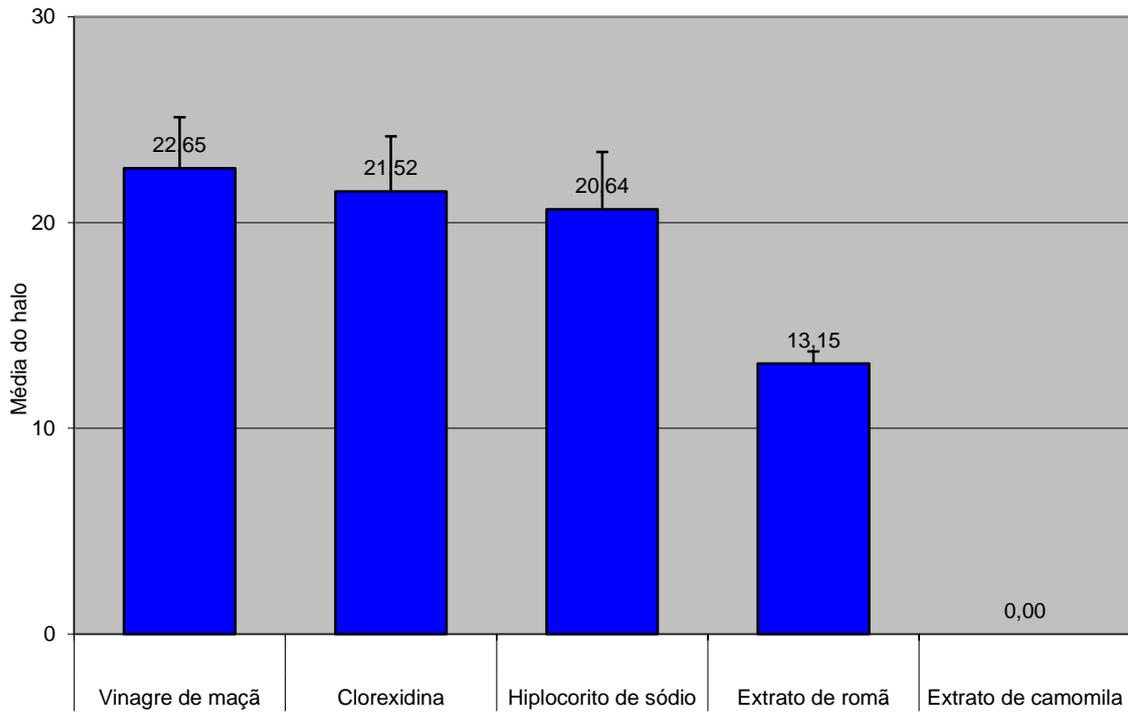
Estatísticas	Grupo					Valor de p
	Vinagre de maçã (n = 12)	Clorexidina (n = 12)	Hipoclorito de sódio (n=10)	Extrato de romã (n= 9)	Extrato de camomila (n=12)	
Média	22,65 ^(A)	21,52 ^(A)	20,64 ^(A)	13,15 ^(B)	0,00 ^(C)	p ⁽¹⁾ < 0,001*
Mediana	22,16	19,94	20,03	13,20	0,00	
Desvio padrão	2,47	2,68	2,79	0,59	0,00	
Coefficiente variação	10,91	12,45	13,52	4,49	**	
Mínimo	19,96	19,85	17,40	12,52	0,00	
Máximo	27,78	26,82	25,03	14,47	0,00	

(*): Diferença significativa ao nível de 5,0%.

(**): Não pôde ser determinado devido ao valor nulo da média.

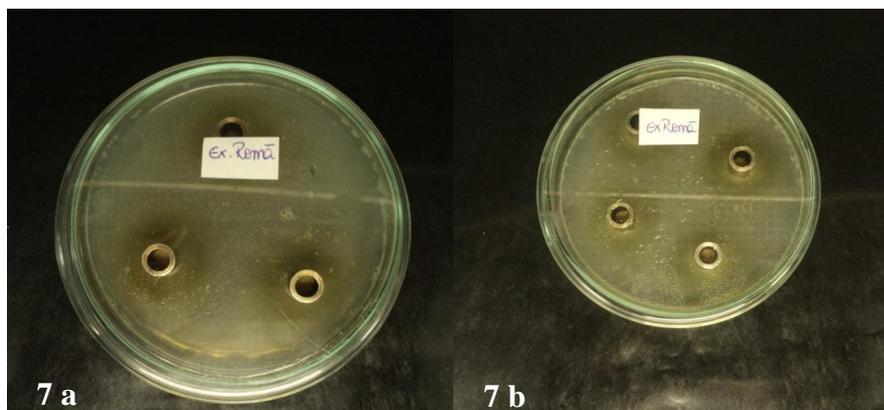
(1): Através do teste F (ANOVA).

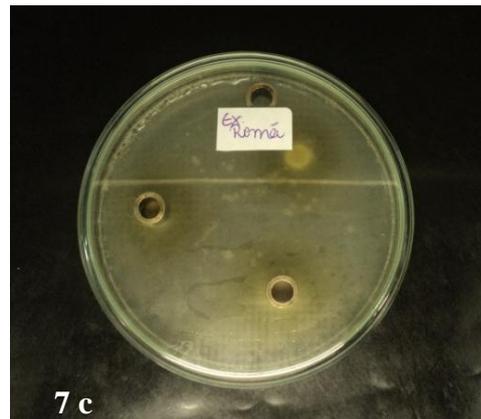
Obs.: Se todas as letras entre parênteses são distintas, comprova-se diferença significativa entre os grupos correspondentes pelas comparações pareadas de Tamhane.



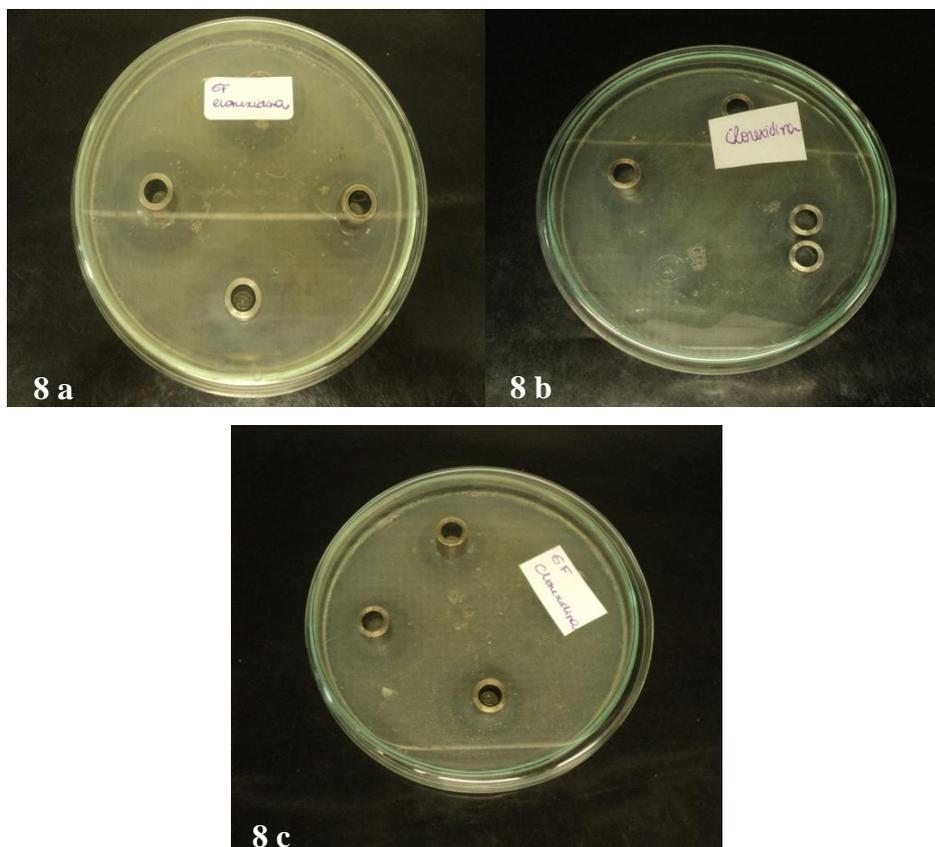
Fotografia 6 – Média + desvio padrão do diâmetro do halo inibitório do crescimento de *E. faecalis* segundo o produto utilizado.

Nas fotografias 7 a 11 observam-se os halos de inibição do crescimento de *E. faecalis* encontrados, de acordo com o grupos experimental.

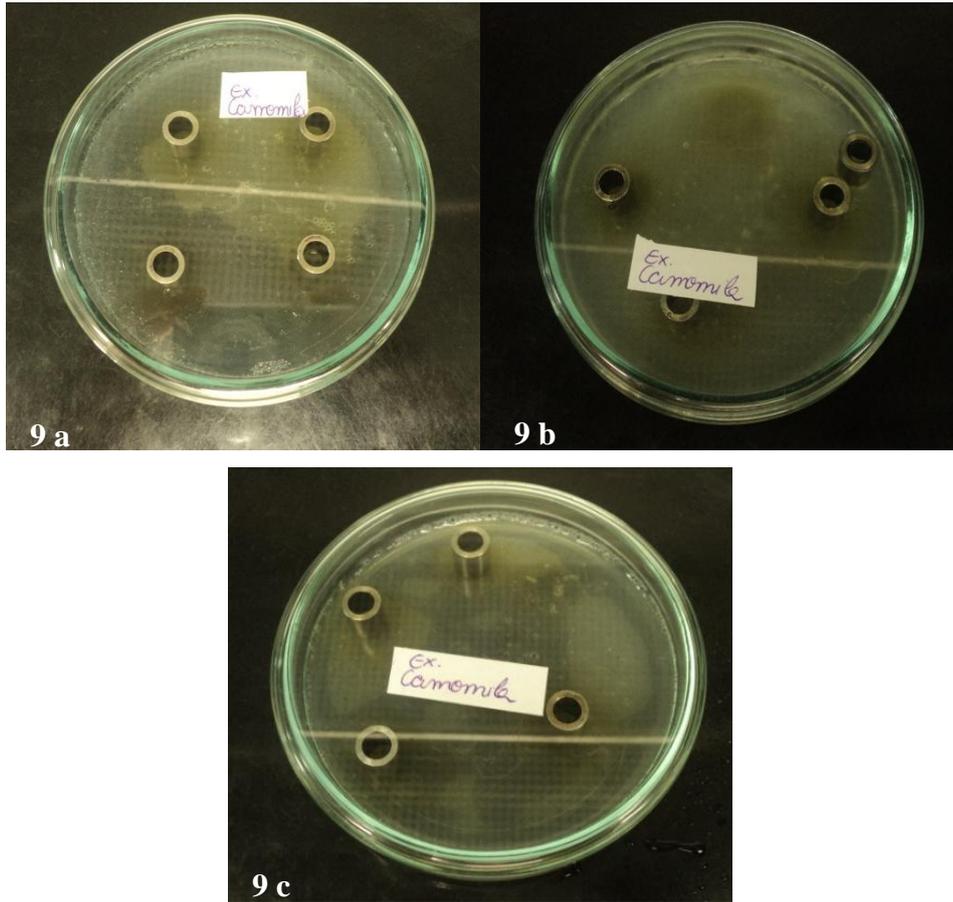




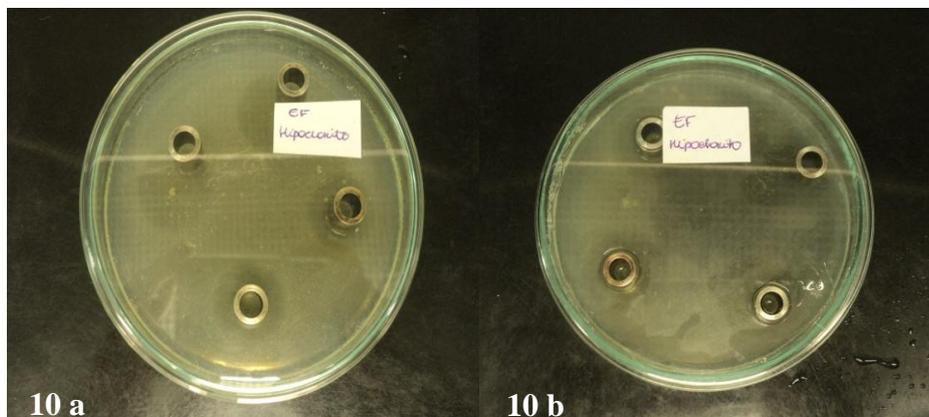
Fotografia 7 – a, b, c: Representação da atividade antimicrobiana do extrato de romã (solução pura) frente ao *Enterococcus faecalis*.

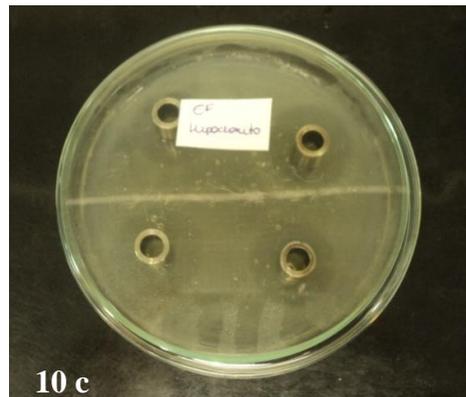


Fotografia 8 – a, b, c: Representação da atividade antimicrobiana da clorexidina 2% frente ao *Enterococcus faecalis*.

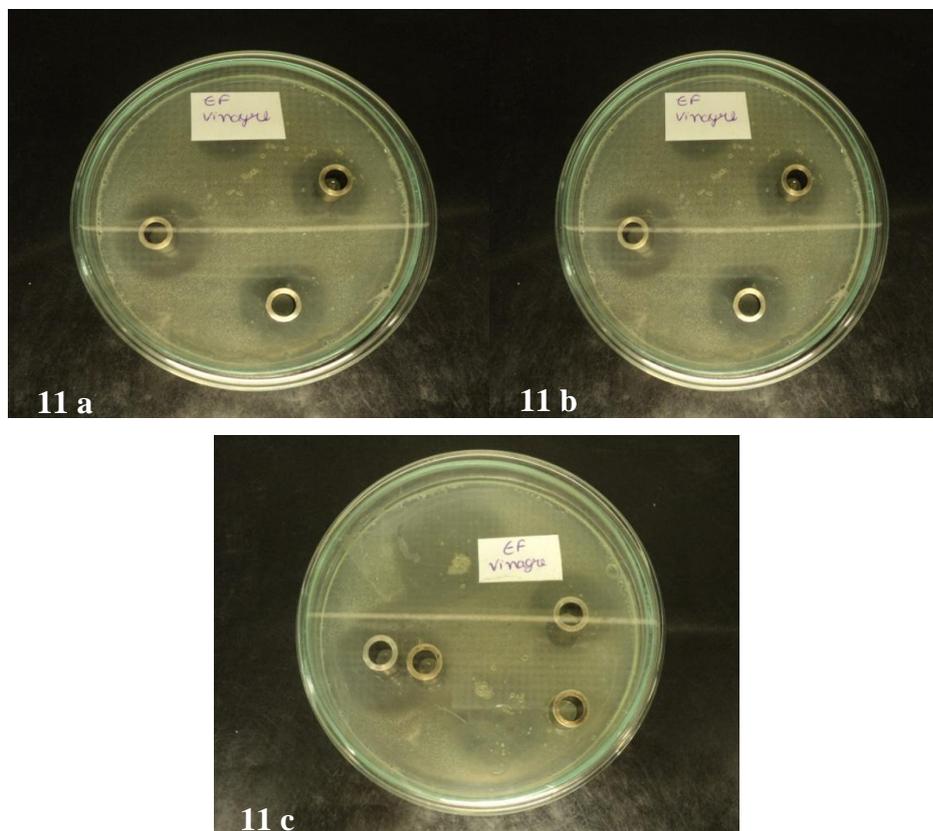


Fotografia 9 – a, b, c Representação da atividade antimicrobiana do extrato de camomila (solução pura) frente ao *Enterococcus faecalis*.





Fotografia 10 – a, b, c: Representação da atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio 2,5% frente ao *Enterococcus faecalis*.



Fotografia 11 – a, b, c: Representação da atividade antimicrobiana do vinagre de maçã 5% frente ao *Enterococcus faecalis*.

6 DISCUSSÃO

O preparo químico-mecânico é de importância singular para o sucesso do tratamento endodôntico. Nesta etapa, é consenso entre os autores o auxílio de um agente irrigante com atividade antimicrobiana (BORIN et al, 2007; GOMES et al., 2010; SAKAMOTO et al., 2007; SIQUEIRA JR.; RÔÇAS, 2007). A utilização de soluções irrigadoras durante o preparo biomecânico é importante para a limpeza e eliminação de microrganismos presentes no interior do sistema de canais radiculares. Como o acesso aos mesmos é limitado, patógenos podem ficar confinados nos túbulos dentinários, ramificações e outras áreas inacessíveis, podendo proliferar e reinfetar o sistema de canais radiculares (SANSSONE et al., 2003).

No presente estudo, o hipoclorito de sódio 2,5% apresentou atividade antimicrobiana satisfatória, corroborando com estudos prévios de Ringel et al. (1982) que estudaram o efeito da clorexidina 0,2% e do hipoclorito de sódio 2,5% como soluções irrigadoras em 60 elementos dentários. Análises microbiológicas de bactérias aeróbicas e anaeróbicas foram realizadas. Os autores concluíram que o hipoclorito de sódio 2,5% como irrigante endodôntico foi mais eficaz que a clorexidina 0,2% como agente antimicrobiano. Tomazinho et al. (2007) avaliando *in vitro* a efetividade de várias soluções irrigadoras na eliminação de *E. faecalis* mostrou que, o hipoclorito de sódio 2,5% também apresentou resultado satisfatório, com média do halo inibitório de 3 mm e que a clorexidina 2% foi uma das soluções irrigadoras mais eficientes.

Em pesquisa realizada por Costa et al. (2010), através da técnica de difusão em Ágar, método do poço, com o objetivo de avaliar *in vitro* a ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *E. faecalis*, obteve média do halo inibitório para hipoclorito de sódio 2,5% no valor de 17,07 mm, no entanto, foi menor que os halos apresentados pelos extratos etanólicos da aroeira-do-sertão e da aroeira-da-praia, com diferenças estatisticamente significativa (teste t, $p \leq 0,05$).

Luz (2013), em seu trabalho com o objetivo de avaliar o pH e ação antimicrobiana de soluções e géis de hipoclorito de sódio 0,5%, 1%, 2,5% e 5,25% em função do tempo de contato (15 s, 30 s, 1 min, 5 min e 10 min), através da técnica de diluição em caldo frente à *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) demonstrou que, dentre as soluções e géis de

hipoclorito de sódio, todas tiveram ação antimicrobiana com exceção daquelas em concentração de 0,5% com tempo de contato até 30 segundos.

Alguns trabalhos demonstraram que, em baixas concentrações, o hipoclorito de sódio apresenta ação antimicrobiana reduzida frente a alguns microrganismos quando comparado à clorexidina (FERRAZ et al., 2001; LIMA; FAVA; ÖNÇAG, 2003; OLIVEIRA et al., 2007; SIQUEIRA JR., 2001; SPRATT et al., 2001). Neste sentido, vários estudos demonstraram algumas vantagens da utilização da clorexidina na terapia endodôntica (FERRAZ et al., 2001; PÉCORA, 2004; TANOMARU FILHO et al., 2002).

Dentre os fármacos empregados na Endodontia, a clorexidina vem se tornando a solução irrigadora de eleição nas fases do preparo químico-mecânico dos canais radiculares (STUART et al., 2007; ZEHNDER, 2006). Em pesquisas realizadas *in vivo*, a clorexidina apresenta uma excelente ação antimicrobiana, como se observa nos trabalhos de Tanomaru Filho et al., (2006); Vianna et al., (2006); e Wang et al., 2007; Zamany, Safavi, Spånberg (2003). O mesmo pôde ser observado nesta pesquisa em que a clorexidina 2% apresentou ação antimicrobiana superior ao hipoclorito de sódio 2,5%, embora não estatisticamente significativo.

Ainda em consonância com os achados deste estudo, Tanomaru Filho et al. (2006) avaliaram *in vivo* o efeito antimicrobiano de vários irrigantes endodônticos. Para tanto, foram utilizados 78 canais radiculares de pré-molares de cães que tiveram lesões periapicais induzidas. Utilizou-se como solução auxiliar no preparo químico-mecânico a solução de hipoclorito de sódio 2,5%, clorexidina 2% e soro fisiológico. Em um quarto grupo não se realizou a instrumentação dos canais. De acordo com os resultados, os grupos que utilizaram soro fisiológico e controle apresentaram aumento do número de microrganismos. Em contrapartida, houve redução de microrganismos nos grupos que utilizaram o hipoclorito de sódio, sendo esta redução ainda mais significativa quando se utilizou a clorexidina.

Devido à presença de espécies bacterianas resistentes ao tratamento endodôntico convencional, realizado com as soluções irrigadoras comumente empregadas (hipoclorito de sódio e clorexidina), torna-se útil a pesquisa por outras diferentes soluções irrigadoras.

Neste contexto, o uso do vinagre de maçã como solução irrigadora foi proposto por Estrela et al. (2004). Esta substância demonstrou eficácia sobre microrganismos endodônticos em dentes de cães com periodontite apical induzida e possuiu capacidade de remoção da smear layer (ESTRELA et al., 2007; ZANDIM et al., 2004).

O comportamento do vinagre de maçã, no tocante à ação antimicrobiana proporcionada neste estudo, foi bastante satisfatório, sendo superior ao hipoclorito de sódio e a clorexidina contra o *E. faecalis*, que corrobora com os resultados encontrados por Barros et al. (2008); Corrêa et al. (2002); Estrela et al. (2005); Estrela et al. (2007); Prati et al. (2003); Zandim et al. (2004).

Sobre o vinagre de maçã, acrescenta-se ainda que Estrela et al. (2005) avaliaram a capacidade antimicrobiana de quatro tipos de vinagres (maçã, arroz, tinto e branco), em suspensão mista de microrganismos (*S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginos*, *B. subtilis*, *C. albicans*) e outra suspensão pura (*E. faecalis*) em intervalos de 24, 48, 72 horas e 7 dias. Os resultados mostraram que as soluções avaliadas foram efetivas sobre o *E. faecalis* em todos os períodos experimentais e ao se empregar a suspensão mista de microrganismos, o melhor resultado foi observado pelo vinagre de maçã.

No Brasil há uma larga utilização de plantas para fins medicinais, pela diversidade da flora aqui encontrada (BORBA; MACEDO, 2006). Vários estudos estão sendo realizados, na área odontológica, com a finalidade de se conhecer os reais benefícios que as plantas podem oferecer (DUARTE, 2006).

Toda substância, independente de sua proporção na planta, pode ser um princípio ativo (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998), assim extratos brutos ou semi-puros podem ser obtidos como forma de avaliar a ação farmacológica dessas substâncias. Um dos métodos considerado o mais adequado para a análise químico-farmacológica é a preparação de um extrato hidroalcoólico (CECHINEL FILHO; YUNES, 1997). Frente a isso, este foi utilizado nesta pesquisa por se tratar de uma metodologia já consagrada na literatura. Vários outros autores também partilharam dessa metodologia em suas pesquisas, como Drumond (2004), Martins (2000) e Silva (2001) que utilizaram o extrato hidroalcoólico da malva (*Malva sylvestri*), o extrato hidroalcoólico da *Punica granatum* L. foi avaliado por Albuquerque et al. (2008), o alho (*Allium sativum*) foi usado por Salgado et al. (2006) e o extrato de araçá (*Psidium albidum*) foi avaliado por Pereira (2004).

Diante da necessidade de se realizar pesquisas nessa área, este estudo avaliou também a ação antimicrobiana de substâncias naturais (extrato de romã e de camomila) em culturas puras – ATCC - (American Type Culture Collection) de *Enterococcus faecalis*.

A ação da *Punica granatum* Linn. (extrato da romã) vem sendo estudada na Odontologia, com a finalidade de comprovar sua ação antimicrobiana sobre as bactérias

inerentes a cavidade oral. No entanto, são escassos na literatura trabalhos que relacionem o extrato de romã às bactérias do endodonto, especificamente sobre o *E. faecalis*, conforme metodologia usada neste estudo.

De acordo com Pereira (2002), a romã tem demonstrado ação bactericida e bacteriostática sobre um amplo número de microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos. Esse efeito provavelmente se deve a ação da punicalagina que, segundo Machado et al. (2002) é a principal responsável pela atividade antimicrobiana do extrato. No entanto, neste estudo ao ser avaliado a sua ação antimicrobiana sobre o *E. faecalis*, um microrganismo Gram-positivo, apresentou pouca efetividade, resultado este, discordante do que preconizou o autor.

Pereira et al. (2006) investigaram a atividade antimicrobiana de extratos alcoólicos (5%) do fruto e da casca do fruto da romã sobre cepas de *S. aureus*, *E. coli*, e *Enterobacter gergoviae*. Ambos os extratos demonstraram atividade antimicrobiana satisfatória, porém neste estudo quando utilizada sobre cepas de *E. faecalis*, não apresentou resultados satisfatórios, que recomendem sua utilização em Endodontia, discordando com Barbosa (2010) que também avaliou a ação antimicrobiana da *P. granatum* L. em relação ao *E. faecalis* e concluiu que possui atividade antibacteriana *in vitro*, em concentrações que podem ser indicadas na prática odontológica.

Outro fator a ser analisado em novos estudos visando a possibilidade de aplicação clínica da *Punica granatum* L., seria sua grande quantidade de taninos polifenólicos (HOLETZ et al., 2002) que podem causar algum efeito antiestético. Ademais, é necessário que a atividade antimicrobiana do extrato de romã seja avaliada frente a outros microrganismos responsáveis pela infecção endodôntica (PRATES et al., 2009).

Em relação à camomila, tem sido relatado que a mesma pode ser usada na forma de preparações aquosas (chá) ou na forma de extratos alcoólicos, tendo estes, conteúdo significativamente ativo em modelo farmacológico. Além da propriedade anti-inflamatória e antiespasmódica, estudos *in vitro*, demonstraram ação bacteriostática e fungistática, principalmente contra organismos Gram-positivos e *Candida albicans* (SCHULZ et al., 2002).

Até o presente momento não há estudos que relacionem o extrato de camomila às bactérias do endodonto, especificamente a *E. faecalis*, conforme realizado nesse estudo. Entretanto, essa substância vem sendo testada em outras áreas da Odontologia.

Gebara et al. (1996) verificaram o efeito antimicrobiano de tinturas de camomila sobre *S. mutans* e *S. sobrinus* e determinaram o efeito de doses subinibitórias na aderência das bactérias a superfície do vidro. Os resultados mostraram que a tintura de camomila não exerceu atividade antimicrobiana sobre o *S. mutans* e *S. sobrinus*, por esse motivo não deve ser utilizada como controle destes microrganismos presentes na placa dentária. Também não apresentou efetividade frente ao *E. faecalis*, na presente pesquisa, resultados estes que não levam a recomendação de sua utilização.

Embora o extrato de camomila apresente atividade antimicrobiana frente a determinadas bactérias orais, os resultados desta pesquisa mostraram que o extrato foi ineficaz frente ao *E. faecalis*.

É interessante averiguar se as soluções extrato utilizadas no estudo possuem ação antimicrobiana frente às demais bactérias encontradas nas infecções endodônticas para que futuramente possam tornar-se aptas à aplicação clínica.

7 CONCLUSÃO

- O vinagre de maçã demonstrou ação antimicrobiana satisfatória frente ao *Enterococcus faecalis*, seguido pelas soluções de clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2,5%;
- O extrato de romã apresentou pouca efetividade antimicrobiana;
- O extrato de camomila não apresentou ação antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis*.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, A. C. L.; PEREIRA, M. S. V.; PEREIRA, J. V.; COSTA, M. R. M.; HIGINO, J. S. Efeito antimicrobiano do extrato da *Lippia sidoides Cham.* sobre microrganismos cariogênicos. **Arquivos em Odontologia.**, v. 44, n. 04, p. 5-10, out./dez. 2008.

ALBUQUERQUE, A. C. L.; PEREIRA, M. S. V.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, L. F.; SILVA, D. F.; MACEDO-COSTA, M. R.; HIGINO, J. S. Antiadherent effect of the extract of the *Matricaria recutita* Linn. on microorganisms of dental biofilm. **Rev Odontol UNESP.**, v. 39, n. 01, p. 21-25, 2010.

ALVES, F. R. F. Compreendendo a etiologia microbiana das infecções endodônticas. **Rev. Biociên.**, v.10, n. 1-2, p. 67-71, jan./jun., 2004.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica, Módulo V, 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia/mod_5_204.pdf> Acesso em: 15 set. 2013.

ASSED, S.; ITO, I. Y.; LEONARDO, M. R.; SILVA, L. A. B.; LOPATIN, D. E. Anaerobic microorganisms of human teeth with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. **Endod Dent Traumatol.** v. 12, p. 66-69, 1996.

BALDASSARRI, L.; CRETÍ, R.; MONTANARO, L.; OREFICI, G.; ARCIOLA, C. R. Pathogenesis of implant infections by enterococci. **Int J Artif Organs.**, v. 28, n. 11, p. 1101-1109, 2005.

BARATTO-FILHO, F.; CARVALHO, J. R.; FARINIUK, L. F.; SOUSA-NETO, M. D.; PECORA, J. D.; CRUZ-FILHO, A. M. Morphometric analysis of the effectiveness of different concentrations of sodium hypochlorite associated with rotary instrumentation for root canal cleaning. **Braz. Dent. J.**, v. 15, n. 1, p. 36-40, 2004.

BARBOSA, M. A. Avaliação da atividade antimicrobiana “*in vitro*” da *Punica granatum Linn.* frente a *Enterococcus faecalis* isolados clinicamente. João Pessoa, 2010. 73 p. Tese (Graduação em Odontologia). Universidade Federal da Paraíba.

BARRETO, L.; FEITOSA, M. S. C.; ARAÚJO, J.; CHAGAS, K.; COSTA, K. Acción antimicrobiana *in vitro* de dentífricos conteniendo fitoterápicos. **Av Odonto estomatol.**, v. 21, n. 4, p. 195-201, 2005.

BARROS, F.; COSTA, J. A.; KIRCHHOFF, A. L.; SOUSA-NETO, M. D.; SILVA-SOUSA, Y. T. C. Avaliação do efeito da solução de EDTA 17%, ácido acético 4%, e vinagre de maçã na adesividade do cimento à base de resina epóxica à dentina. In: Reunião da SBPqO, **Bras. Oral Res.**, v. 22, n. 1, p. 271, 2008.

BORBA, A. M.; MACEDO, M. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. **Acta bot. bras.**, v. 20, n. 4, p. 771-782, 2006.

BORIN, G.; BECKER, A. N.; OLIVEIRA, E. P. M. A história do hipoclorito de sódio e sua importância como substância auxiliar no preparo químico mecânico de canais radiculares. **Revista de Endodontia Pesquisa e Ensino OnLine.**, v. 3, n. 5, p. 1- 5. jan./jul.2007.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa, v. 2, Brasília, 2010. 904p.

BUFFON, M. C. M.; LIMA, M. L. C.; GALARDA, I.; COGO, L. Avaliação da eficácia dos extratos de *Malva sylvestris*, *Calêndula officinalis*, *Plantago major* e *Curcuma zedoarea* no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo "*in vitro*". **Revista Visão Acadêmica.**, v. 2, n. 1, p. 31-38, jan./jun. 2001.

CAIRES, N. C. M. **Estudo *in vitro* das interações bacterianas de bactérias isoladas de infecções endodônticas e caracterização parcial de substância(s) antagonista(s) produzida(s) por amostra de *C.butyrlicum*.** Belo Horizonte, 2005. 84f. Tese (Mestrado em Endodontia). Faculdade de Odontologia. Universidade Federal de Minas Gerais.

CALIGIANI, A.; ACQUOTTI, D.; PALLA, G.; BOCCHI, V. Identification and quantification of the main organic components of vinegars by high resolution ¹H NMR spectroscopy. **Analyt. Chim. Acta.**, v. 585, n. 2, p. 110-119, 2007.

CAMARGO, S. E. A; BLANCO, T. M; LIMA, R. Y; RODE, S. M; CAMARGO, C. H. R. Avaliação do pH das soluções de hipoclorito de sódio 1% e 2,5% e digluconato de clorexidina 2% em função do tempo. **Revista Odonto.**, n. 31, p. 85-91, jan./jun. 2008.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química nova.**, v. 21, n. 1, 1998.

CHEUNG, G.S.; STOCK, C. J. In vitro cleaning ability of root canal irrigants with and without endosonics. **Int Endod J.** v. 26, n. 6, p.334-343, 1993.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE: Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo., v. 25, n. 1. 2005

COLDERO, L. G.; MCHUGH, S.; MACKENZIE, D.; SAUNDERS, E. P. Reduction in intracanal bacteria during root canal preparation with and without apical enlargement. **Int. Endod. J.**, v.35, p.437-446, 2002.

CORRÊA, F. O. B.; ROSSA, J. C.; SAMPAIO, J. E. C. Remoção da smear layer radicular através de bebidas da dieta. Estudo in vitro. **JBE**, v. 3, p. 15-20, 2002.

COSTA, E. M. M. B.; BARBOSA, A. S.; ARRUDA, T. A.; OLIVEIRA, P. T.; DAMETTO, F. R.; CARVALHO, R. A.; MELO, M. D. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. **J Bras Patol Med Lab.**, v. 46. n. 3. p. 175-180, jun. 2010.

COSTA, E. M. M. B.; ESMERALDO, M. R. A. 1.; CARVALHO, M. G. F.; DANIEL, R. L. P.; PASTRO, M. F.; SILVA JUNIOR, F. L. Avaliação da ação antimicrobiana da própolis e de substâncias utilizadas em endodontia sobre o *Enterococcus faecalis*. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr.**, v. 8, n. 1, p. 21-25, jan./abr. 2008.

CRAIG, W. J. Chamomile for common complaints. **Vibrant Life.**, 2001.

DAMETTO, F.R.; FERRAZ, C. C. R.; GOMES, B. P. F. A.; TEIXEIRA, F. B.; ZAIA, A.; SOUZA FILHO, F. J. *In vitro* assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 99, n. 6, p. 768-72, jun. 2005.

DRUMOND, M. R. S.; CASTRO, R. D.; ALMEIDA, R. V. D.; PEREIRA, M. S. V.; PADILHA, W. W. N. Estudo comparativo in vitro da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr.**, v. 4, n. 1, p. 33-38, jan./abr. 2004.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas Medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Multiciência.**, v. 7, out. 2006.

EL KARIM, I.; KENNEDY, J.; HUSSEY, D. The antimicrobial effects of root canal irrigation and medication. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 103, n. 4, p. 560-569, 2007.

ERCAN, E.; ÖZEKINCI, T.; ATAKUL, F.; GÜL, K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: *in vivo* study. **J Endod.**, v. 30, p. 84-87, 2004.

ESTRELA, C.; ESTRELA, C. R. A.; BARBIN, E. L.; SPANÓ, J. C. E.; MARCHESAN, M. A.; PÉCOR, J. D. Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Braz Dent J.**, v. 13, n. 2, p. 113-117, 2002.

ESTRELA, C.; HOLLAND, R.; BERNABÉ, P. F. E.; SOUZA, V.; ESTRELA, C. R. A. Antimicrobial potencial of medicaments used in healing process in dog's teeth with apical periodontitis. **Braz Dent J.**, v. 15, n. 3, p. 181-185, 2004.

ESTRELA, C.; LOPES, H. P.; ELIAS, C. N.; LELES, C. R.; PÉCOR, J. D. Limpeza da superfície do canal radicular pelo vinagre de maçã, hipoclorito de sódio, clorexidina e EDTA. **Ver Assoc Paul Cir Dent.**, v.61, n. 2, p. 117-122, 2007.

ESTRELA, C.; RIBEIRO, R. G.; ESTRELA, C. R.; PÉCOR, J. D.; SOUSA-NETO, M. D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Braz Dent J.**, v. 14, n. 1, p. 58-62, 2003.

ESTRELA, C.; SILVA, J. A.; ALENCAR, A. H. G.; LELES, C. R.; DECURCIO, D. A. Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* – a systematic review. **J Appl Oral Sci.**, v. 16, p. 364-368, 2008.

ESTRELA, C. R.; ESTRELA, C.; CRUZ-FILHO, A. M.; PÉCOR, J. D. Substância ESP: Opção na terapêutica endodôntica. **JBE.**, v. 5, n. 19, p. 273-9, 2005.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Rev Bras Cienc Farm.**, v. 42, n. 3, p. 370-393, 2006.

FERRAZ, C. C.; GOMES, B. P.; ZAIA, A. A.; TEIXEIRA, F. B.; SOUZA-FILHO, F. J. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. **J Endod.**, v. 27, n. 7, p. 452-455, jul. 2001.

FIGDOR, D.; DAVIES, J. K.; SUNDQVIST, G. Starvation survival, growth, and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. **Oral Microbiol Immunol.**, v. 18, p. 234-239, 2003.

GEBARA, E. C. E.; ZARDETTO, C. G. D. C.; MAYER, M. P. A. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. **Rev. Odont. USP.**, v. 10, n. 4, p. 251-256, out./dez. 1996.

GOMES, B. P. F. A.; PINHEIRO, E. T.; GADÊ-NETO, C. R.; SOUZA, E. L. R.; FERRAZ, C. C. R.; ZAIA, A. A. Microbiological examination of infected dental root canals. **Oral Microbiol Immunol.**, v. 19, p. 71-76, 2004.

GOMES, B. P. F. A.; PINHEIRO, E. T.; JACINTO, R. C.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. R.; SOUZA FILHO, F. J. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction. **J Endod.**, v. 34, p. 537-540, 2008.

GOMES, M. C. P.; BRITTO, M. L. B.; NABESHIMA, C. K. Análise da concentração de cloro ativo em soluções de hipoclorito de sódio encontradas em consultórios odontológicos. **Rev Assoc Paul Cir Dent.**, v. 64, n. 2, p. 150-154, 2010.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS-FILHO, B. P. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem Inst Oswaldo Cruz.**, v. 97, n. 7, p.1027-1031, 2002.

IRALA, L. E. D.; SOARES, R. G.; BARBOSA, A. N.; RORIG, A.; PETER, J. Capacidade de remoção da smear layer das paredes do canal radicular utilizando o vinagre de álcool e o vinagre de maçã como soluções irrigadoras durante a terapia endodôntica. **Stomatos.**, vol. 15, n. 28, p. 47-57, jan/jun, 2009.

JAFRI, M. A.; ASLAM, M.; JAVED, K.; SINGH, S. Effect of *Punica granatum* Linn. (flowers) on blood glucose level in normal and alloxan-induced diabetic rats. **J Ethnopharmacol.**, v. 70, p. 309-314, 2000.

JULIET, L. C. Estudio de susceptibilidad *in vitro* de *Enterococcus spp.* **Rev Chil Infect.**, v. 19, n. 2, p.111-115, 2002.

JURENKA, J. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): a review. **Altern Med Rev.**, v. 13, p. 128-44, 2008.

KALFAS, S.; FIGDOR, D.; SUNDQVIST, G. A new bacterial species associated with failed endodontic treatment: Identification and description of *Actinomyces radicidentis*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 92, n. 2, p. 208-214, 2001.

KATO, A.; MINOSHIMA, Y.; YAMAMOTO, J.; ADACHI, I.; WATSON, A. A.; NASHI, R. J. Protective effects of dietary chamomile tea on diabetic complications. **J Agric Food Chem.**, v. 56, n. 17, p. 8206-8211, 2008.

KAYAOGU, G.; ORSTAVIK, D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. **Crit Rev Oral Biol Med.**, v. 15, p. 308-320, 2004.

KHADEMI, A. A.; MOHAMMADI, Z.; HAVAEE, A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. **Aust Endod J.**, v. 32, n. 3, p. 112-115, dec. 2006.

KIRCHHOFF, A. L. **Avaliação da efetividade de vinagre de maçã e de seus componentes na remoção da camada de smear e íons cálcio após a irrigação do canal radicular.** Ribeirão Preto, 2009. Tese (Doutorado em Odontologia). Universidade de Ribeirão Preto.

LEE, Y.; HAN, S. H.; HONG, S. H.; LEE, J. K.; JI, H.; KUM, K. Y. Antimicrobial efficacy of a polymeric chlorhexidine release device using *in vitro* model of *Enterococcus faecalis* dentinal tubule infection. **J Endod.**, v. 34, n. 7, p. 855-858, 2008.

LIMA, K. C.; FAVA, L. R. G.; SIQUEIRA JR, J.F. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. **J Endod.**, v. 27, n. 10, p. 616-619, oct. 2001.

LINN, L. M.; SKRIBNER, J. E.; GAENGLER, P. Factors associated with endodontic treatment failures. **J Endod.**, v. 18, p. 625-627, 1992.

LOPES, H. P.; SIQUEIRA JR, J. F. **Endodontia – Biologia e Técnica.** Ed. 2^o, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

LOVE, R. M. *Enterococcus faecalis* - a mechanism for its role in endodontic failure. **Int Endod J.**, v. 34, p. 399-405, 2001.

LUZ, L. B. **Análise ação antimicrobiana de soluções e géis de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações.** Porto Alegre. 2013. 31 f. Tese (Graduação em Odontologia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

MACHADO, T. B.; LEAL, I. C. R.; AMARAL, A. C. F.; SANTOS, K. R. N.; SILVA, M. G.; KUSTER, R. M. Antimicrobial ellagitannin of *Punica granatum* fruits. **J Braz Chem Soc.**, v. 13, n. 5, p. 606-610, 2002.

MACHADO, T.; PINTO, A.; PINTO, M.; LEAL, I.; SILVA, M.; AMARAL, A. *In vitro* activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Int J Antimicrob Agents.**, v.21, p.279–284, 2003.

MAIA FILHO, E. M.; MAIA, C. C. R.; BASTOS, A. C. S. C.; NOVAIS, T. M. G. Efeito antimicrobiano *in vitro* de diferentes medicações endodônticas e própolis sobre **Enterococcus faecalis**. **RGO.**, v. 56, n. 1, p. 21-25, jan./mar. 2008.

MARENDING, M.; PAQUÉ, F.; FISCHER, J.; ZEHNDER, M. Impact of irrigant sequence on mechanical properties of human root dentin. **J Endod.**, v. 33, n. 11, p. 1325-1328, 2007.

MARTINS, E. R. **Buscando a saúde por meio das plantas medicinais.** Plantas medicinais. Viçosa: UFV; 2000.

MARÇAL, L. Z.; VIZENTINI, W.; REBELLO, L. C.; FILHO, S. A. V.; BELINELO, V. J. Atividade *in vitro* de tintura de romã (*Punica granatum* L.) contra cepa padrão de *Streptococcus pyogenes*. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**, v.7, n.13, 2011.

MCKAY, D. L.; BLUMBERG, J. B. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). **Phytotherapy Res.**, v. 20, n. 7, p. 519-530, 2006.

MELO, A. B. P. **Avaliação “In Vitro” da Punica granatum Linn. Utilizada como medicação intracanal.** Camaragibe, 2008.106f. Tese (Doutorado em Endodontia). Faculdade de Odontologia de Pernambuco, Universidade de Pernambuco.

MENEZES, S. M. S. **Avaliação da eficácia antimicrobiana do extrato hidroalcoólico dos frutos de Punica granatum L. (Romã) na placa bacteriana.** Fortaleza, 2004. 80f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia Clínica). Universidade Federal do Ceará.

MICHELOTTO, A. L. C; ANDRADE, B. M. de; SILVA JÚNIOR, J. A. da; SYDNEY, G. B. Clorexidinana terapia endodôntica. **Revista Sul-Brasileira de Odontologia.**, v. 5, n. 1, p. 77-89. fev./ mar.2008.

MIRANDA, M. A. **Atividade antimicrobiana das soluções de barbatimão, mamona e clorexidinautilizadas na Endodontia. Avaliação comparativa *in vitro*.** Ribeirão Preto, 2010. Tese (Mestrado em Endodontia). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo.

MOHAMMADI, Z. Sodium hypochlorite in endodontics: na update review. **Int Dent J.**, v. 58, p. 329-341, 2008.

MOLINA, F. P. **Associação de *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *Escherichia coli* em canais radiculares e avaliação dos efeitos de extratos naturais sobre os microrganismos e endotoxinas.** São José dos Campos, 2008. Tese (graduação em Odontologia). Faculdade de Odontologia de São José dos Campos. UNESP.

MONTEIRO, F. H. L.; PROKOPOWITSCH, I.; MOURA-NETTO, C de.; MOURA, A. A. M. de. Ação do gluconato de Clorexidinae do Hipoclorito de sódio como substâncias químicas de uso intra-canal. **Revista Espelho Clínico.**, n. 74, p. 4 -6. jun. 2009.

NACIF, M. C. A. M.; ALVES, F. R. F. *Enterococcus faecalis* na Endodontia: um desafio ao sucesso. **Rev. bras. odontol.**, v. 67, n. 2, p. 209-214, jul./dez. 2010.

NAZ, S.; SIDDIQI, R.; AHMAD, S.; RASOOL, S.; SAYEED, S. Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punica granatum*. **Int J Food Sci Nutr.**, v. 72, p. 341–345, 2007.

NEGI, O.S.; JAYAPRAKASHA, G. K. Antioxidant and antibacterial activities of *Punica granatum* peel extracts. **J Food Sci.**, v. 68, n. 4, p. 1473-1477, 2003.

OKINO, L. A.; SIQUEIRA, E. L.; SANTOS, M.; BOMBANA, A. C.; FIGUEIREDO, J. A. P. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. **Int. Endod. J.**, v. 37, n. 1, p. 38-41, 2004.

OLIVEIRA, A.; ASIKUE, G. **Fundamentos de Farmacobotânica.** Bragança Paulista Atheneu. 2001. 118 p.

OLIVEIRA, L. D.; JORGE, A. O. C.; CARVALHO, C. A. T.; KOGA-ITO, C. Y; VALERA, M. C. *In vitro* effects of endodontic irrigants on endotoxins in root canals. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 104, p. 135-142, 2007.

ONÇAĞ, O.; HOŞGÖR, M.; HILMIOĞLU, S.; ZEKIOĞLU, O.; ERONAT, C.; BURHANOĞLU, D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. **Int Endod J.**, v. 36, n. 6, p. 423-432, jun. 2003.

PAIXÃO, C. C. B. Uso de plantas medicinais em pacientes portadores de afecções bucais. **Odontol Clin Cient.**, v. 1, p. 1-4, 2002.

PÉCORRA, J. D. Soluções auxiliares da biomecânica dos canais radiculares Disponível em: http://www.forp.usp.br/restauradora/temas_endo/solu/solu.htm. 2004. Acesso em: 20 jul. 2013.

PEREIRA, J. V. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da *Punica granatum* Linn. sobre microrganismos formadores de placa bacteriana. **Pesq Bras em Odontoped Clin Integ.**, v. 4, n. 3, p. 265, 2004.

PEREIRA, J. V. Estudos com o extrato da *Punica granatum* Linn. (romã): efeito antimicrobiano *in vitro* e avaliação clínica de um dentifrício sobre microrganismos do biofilme dental. João Pessoa, 2002. 88f. Tese (Doutorado em Diagnóstico) Faculdade de Odontologia. Universidade Federal da Paraíba.

PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.; SAMPAIO, F. C.; SAMPAIO, M. C. C.; ALVES, P. M.; ARAÚJO, C. R. F.; HIGINO, J. S. Efeito antibacteriano e antiaderente *in vitro* do extrato da *Punica granatum* Linn. sobre microrganismos do biofilme dental. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn.**, v.16, n.1, jan/ mar. 2006.

PEREIRA, J.; SILVA, S.; FILHO, L.; HIGINO, L. J. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da *Punica granatum* Linn sobre microrganismos formadores de placa bacteriana. **Periodontia.**, v. 12, n. 4, p. 57-64, 2001.

PEREIRA, M. S. V.; PEREIRA, J. V.; ALBUQUERQUE, A. C. L.; ARAÚJO, C. R. F.; DINIZ, D. N.; COSTA, M. R. M.; ALVES, P. M. Plantas medicinais na Odontologia: potencial antimicrobioano. **Editora Universitária da UFPB**, 157 p. 2009.

PINA-VAZ, I.; BARROS, J.; NOITES, R.; VILLA-VIGIL, A.; PINTADO, M.; CARVALHO, M. F. Estratégias antimicrobianas na prevenção e tratamento da infecção oral.

Revista Europeia de Odontoestomatologia. Disponível em: <<http://www.redoe.com/ver.php?id=124>>. Acesso em: 21 set. 2013.

PINHEIRO, E. T.; GOMES, B. P. F. A.; FERRAZ, C. C. R.; SOUZA, E. L. R.; TEIXEIRA, F. B.; SOUZA-FILHO, F. J. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. **Int Endod J.**, v. 36, p. 1-11, 2003.

PINTO, A. A. C.; MADURO, C. B. Produtos e subprodutos da medicina popular comercializados na cidade de Boa Vista, Roraima. **Acta amazônica.**, v. 33, n. 2, p. 281-290, 2003.

PRATES, G. F.; CARMO, A. L. M.; PRATES, E.; VERUSSA, A. A.; DALGALLO, B.; PEINHO, P. H. C.; HILLIG, E.; MACHADO, G. O. Extração de substâncias corantes de serragem de madeira de ocotea-imbuia (*ocotea porosa*). VII Semana de Engenharia Ambiental, Irati, 2009.

PRATI, C.; MONTEBUGNOLI, L.; SUPPA, P.; VALDRÉ, G.; MONGIORGI, R. Permeability and morphology of dentin after erosion induced by acidic drinks. **J Periodontol.**, v. 74, p. 428-436, 2003.

RINGEL, A. M.; PATTERSON, S.S.; NEWTON, C. W.; MILLER, C.H.; MULHERN, J. M. *In vivo* evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. **J Endod.**, v. 8, n. 5, p. 200-204, 1982.

ROÇAS, I. N.; SIQUEIRA JR, J. F.; SANTOS, K. R. N. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. **J Endod.**, v. 30, p. 315-320, 2004.

SAKAMOTO, M.; SIQUEIRA JF, J. R.; RÔÇAS, I. N.; BENNO, Y. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. **Oral Microbiol Immunol.**, v. 22, p. 19-23, 2007.

SALGADO, A. D. Y.; MAIA, J. L.; PEREIRA, S. L. S.; LEMOS, T. L. G.; MOTA, O. M. L. Antiplaque and antigingivitis effects of a gel containing *Punica granatum* Linn. extract. A double-blind clinical study in humans. **J Appl Oral Sci.**, v. 14, n. 3, p. 162-166, 2006.

SASSONE, L. M.; FIDEL, R. A. S.; FIDEL, S. R.; DIAS, M.; HIRATA JR, R. Antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine using a contact test. **Braz Dent J.**, v. 14, n. 2, 2003.

SCHULZ, V.; HÄNSEL, R.; TYLER, V. E. **Fitot Racion**: um guia de fitoterapia para as ciências da saúde. 4. ed. Madrid: Manole, 2002.

SILVA, J. A. **Avaliação em estudos longitudinais da eficácia do hipoclorito de sódio e da clorexidina sobre o Enterococcus faecalis presente em infecções endodônticas**. 109f. Uberlândia, 2007. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral). Universidade Federal de Uberlândia.

SILVA, R.C. **Plantas Medicinais na Saúde Bucal**. Vitória: 2001, 136 p.

SIQUEIRA, JR. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. **Int Endod J.**, v. 34, p. 1-10, 2001.

SIQUEIRA JR, J. F. Endodontic infections: Concepts, paradigms, and perspectives. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 94, p. 281-293, 2002.

SIQUEIRA JF, J. R; RÔÇAS, I. N. Bacterial pathogenesis and mediators in apical periodontitis. **Braz Dent J.**, v. 18, n. 4, p. 267-280, 2007.

SHIVANANDA, B.; RAJU, S. S.; RAO, A. V. C. Wound healing activity of *Matricaria recutita* L. extract. **Journal of Wound Care**, v. 16, p. 298-302, 2007.

SPANÓ, J. C. E.; BARBIN, E. L.; SANTOS, T. C.; GUIMARÃES, L. F.; PÉCORÁ, J. D. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physicochemical properties of resulting liquid. **Braz. Dent. J.**, v. 12, n. 3, p. 154- 179, 2002.

SPRATT, D. A.; PRATTEN, J.; WILSON, M.; GULABIVALA, K. An *in vitro* evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. **Int Endod J.**, v. 34, n. 4, p. 300-307, jun. 2001.

SRIVASTANA, J. K.; GUPTA, S. Antiproliferative and apoptic effects of chamomile extract in various human cancer cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 55, p. 9470-9478, 2007.

STUART, C. H.; SCHWARTZ, A. S.; BEESON, T. J.; OWATZ, C. B. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. **J Endod.**, v. 32, n. 2, p. 93-98, 2006.

SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D. Life as endodontopathogen. **Endodontic Topics.**, v. 6, p. 3–28, 2003.

TANOMARU FILHO, M.; YAMASHITA, J. C.; LEONARDO, M. R.; SILVA, L. A. B.; TANOMARU, J. M. G.; ITO, I. Y. *In vivo* microbiological evaluation of the effect of biomechanical preparation of root canals using different irrigating solutions. **J Appl Oral Sci.**, v. 14, n. 2, p. 105-110, 2006.

THACKER E. O vinagre. São Paulo: **Pacific Port Com Ltda**, 2000.

TOMAZINHO, L. F.; SILVA, D. C. C.; FAGUNDES, F. S.; TOMAZINHO, P. H. Estudo *in vitro* da atividade antimicrobiana se soluções irrigadoras na eliminação de *Enterococcus faecalis*. **RSBO**, v. 4, n. 1, 2007.

VASCONCELOS, L. C. S.; SAMPAIO, F. C.; SAMPAIO, M. C. C.; PEREIRA, M. S. V.; HIGINO, J. S.; PEIXOTO, M. H. P. Minimum inhibitory concentration of adherence of *Punica granatum* Linn. (pomegranate) gel against *S. mutans*, *S. mitis* and *C. albicans*. **Braz Dent J.**, v. 17, n. 3, 2006.

VIANNA, M.E.; GOMES, B. P. F. A.; BERBER, V. B.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. R.; SOUZA-FILHO, F. J. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 97, n. 1, p. 79-84, 2004.

VIANNA, M. E.; HORZ, H. P.; CONRADS, G.; ZAIA, A. A.; SOUZA-FILHO, F. J.; GOMES, B. P. F. A. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogenes. **Oral Microbiol Immunol.**, v. 22, p. 411-418, 2007.

VIANNA, M. E.; HORZ, H. P.; GOMES, B. P. F. A.; CONRADS, G. *In vivo* evaluation of microbial reduction after hemomechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. **Int Endod J.**, v. 39, p. 484-492, 2006.

WANG, C. S.; ARNOLD, R. R.; TROPE, M.; TEIXEIRA, F. B. Clinical efficiency of 2% chlorhexidine gel in reducing intracanal bacteria. **J Endod.**, v. 33, n. 11, p. 1283-1289, 2007.

WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. **Farmacologia clinica para dentistas**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

WEBER, B.; HERRMANN, M.; HARTMANN, B.; JOPPE, H.; SCHMIDT, C. O.; BERTRAM, H. J. HPLC/MS and HPLC/NMR as hyphenated techniques for accelerated characterization of the main constituents in chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert). **Eur Food Res Technol.**, v. 226, p. 755-760, 2008.

WEBER, C. D.; MCCLANAHAN, S. B.; MILLER, G. A.; DIENERWEST, M.; JOHNSON, J. D. The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. **J Endod.** v. 29, n. 9, p. 562-564, 2003.

WEIGER, R.; LUCENA, J.; DECKER, H. E.; LÖST, C. Vitality status of microorganisms in infected human root dentine. **Int Endod J.**, v. 35, p. 166-171, 2002.

YAMASHITA, J. C.; TANOMARU FILHO, M.; LEONARDO, M. R.; ROSSI, M. A.; SILVA, L. A. Scanning electron microscopic study of the cleaning ability of chlorhexidine as a rootcanal irrigant. **Int Endod J.** v. 36, n. 6, p. 391-394, 2003.

ZAMANY, A.; SAFAVI, K.; SPÅNGBERG, L. S. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 96, n. 5, p. 578-581, 2003.

ZANDIM, D.L.; CORRÊA, F. O. B.; SAMPAIO, J. E. C.; JÚNIOR, C. R. The influence of inegars on exposure of dentinal tubules: a SEM evaluation. **Braz Oral Res.**, v. 18, n.1, 2004.

ZEHNDER, M. Root canal irrigants. **J Endod.**, v. 32, n. 5, p. 389-398, 2006.