



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

MAIANA MARIA RIOS SIQUEIRA MATTOS

**UMA NOVA ABORDAGEM PARA O TRATAMENTO DE INFECÇÕES
ENDODÔNTICAS PERSISTENTES COM O USO DO EXTRATO DE
AROEIRA BRUTO a 50% FRENTE A UMA CEPA DE *Enterococcus
faecalis* ATCC 29212**

Salvador

2015

MAIANA MARIA RIOS SIQUEIRA MATTOS

**UMA NOVA ABORDAGEM PARA O TRATAMENTO DE INFECÇÕES
ENDODÔNTICAS PERSISTENTES COM O USO DO EXTRATO DE
AROEIRA BRUTO a 50% FRENTE A UMA CEPA DE *Enterococcus
faecalis* ATCC 29212**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof^a Dr^a Aparecida Maria Cordeiro Marques

Co-Orientador: Prof^a Dr^a Susana Carla Pires Sampaio de Oliveira

Salvador

2015

DEDICATÓRIA

Eu dedico esse título, em grande parte ao meu **amado marido José Eduardo**. Falta palavras para expressar toda a minha gratidão. Obrigada pelo apoio e suporte incondicional, pela paciência, pelo carinho e amor retribuído durante todo esse período difícil para ambos devido a distância "obrigatória", por acreditar sempre em mim, por me cobrar os prazos finais, por ser meu fã número um, por ser um companheiro fora do normal e, acima de tudo por me amar como você me ama. Esse título eu divido especialmente com você meu amor, porque você merece tanto quanto eu, porque você chorou e sorriu comigo dividindo as angústias e vitórias, você me acalentou quando eu estava estressada com prazos e mais prazos e você vibrou com cada passo conquistado. Meu muito obrigada!!! Te amo infinitamente!

"Deixa eu dizer que te amo, deixa eu pensar em você, isso me acalma, me acolhe a alma, isso me ajuda a viver"

Marisa Monte / Carlinhos Brown

DEDICATÓRIA ESPECIAL

Uma outra parte, eu dedico a minha família, especialmente aos **meus pais**, Paulo e Daise, por me acolherem, de braços abertos, novamente em casa, me auxiliando com todo suporte necessário em busca do meu aperfeiçoamento profissional e do meu sonho, pelo exemplo de honestidade, dignidade e amor incondicional. Logo em seguida, aos **meus irmãos**, Mi, Maninho e Kel, que mesmo de longe emanavam vibrações positivas de carinho e amor a todo tempo. Irmãos iguais a vocês eu não poderia encontrar em lugar algum. Amo demais todos vocês!

"Dê a quem você ama: asas para voar, raízes para voltar e motivos para ficar."

Dalai Lama

DEDICATÓRIA ESPECIAL *in memoriam*

Um agradecimento mais que especial a **minha amiga Fernanda Pinheiro de Sá**, que infelizmente faleceu no dia 10 de Fevereiro de 2014, na semana da minha qualificação. Amiga, você esteve comigo em todos os momentos especiais de minha vida e tenho certeza que você torcia muito por mim. Sei que onde você estiver continua torcendo por mim. Tenho o maior orgulho de ter tido a oportunidade de te conhecer e ainda mais de ter te escolhido como minha irmã de coração. Obrigada por mais de 20 anos de amizade, pelos abraços e carinhos, pelas reclamações, quando necessárias, pelas lágrimas e sorrisos. Enfim, obrigada por tudo o que você representou e continua representando na minha vida. Uma amizade como a nossa é inesquecível e está pra sempre registrada na minha pele em forma de tatuagem. Te amo pra sempre!

"Algumas amizades passam rápido, num piscar de olhos. Outras são feitas para durar até que você pisque pela última vez"

Autor Desconhecido

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por me proporcionar essa oportunidade e por sempre me dar força e perseverança para enfrentar os obstáculos e dificuldades ao longo do caminho.

Às **minhas avós**, pelas palavras de conforto e estímulo, me incentivando a todo instante.

Aos **meus sogros**, por ter sido sempre acolhida com muito amor e carinho.

A **família Pinheiro de Sá** (Tia Jo, Tio Fernando e Dindy), minha família de coração. Obrigada por estarem sempre comigo e torcerem pra mim. A dor ainda existe, a saudade é infinita e o amor por Nanda nos une de uma forma tão especial. Amo vocês!

A **toda minha família**, pelo carinho e apoio constantes.

Aos **meus amigos**, pela ausência, pela paciência, pelo amor e carinho dividido durante os poucos momentos juntos e por estarem sempre ao meu lado.

A todos os **meus colegas e amigos** de caminhada por esse Mestrado, obrigado pelo carinho, paciência, confiança, descontração durante as aulas e durante as nossas viagens, pelo estresse de prazos, artigos e seminários, lágrimas e sorrisos, enfim, por todos os momentos compartilhados durante essa longa trajetória. Amo vocês!!!!

A **minha orientadora** querida, Prof^a Dr^a Cida Marques, pela parceria, dedicação e fidelidade. Obrigada por estar sempre disponível e ao meu lado durante toda a caminhada do Mestrado.

A minha **co-orientadora Prof^a Dr^a Susana Oliveira** e ao meu parceir laboratório **Prof^o Gustavo Miranda** pela dedicação, suporte e paciência para cc e para com os experimentos.

Aos **professores de Endodontia** da Universidade Federal da Bahia, em especial Prof^o Silvio ALbergaria, Prof^a Fátima Malvar, Prof^a Érica e Prof^a Fabíola Carvalho, que me acolheram durante o tirocínio, compartilhando comigo conhecimento e caso clínico.

Aos professores, colegas e estagiários do **Centro de Biofotônica** da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia, por estarem comigo ao longo dessa jornada.

Aos **professores e pesquisadores** de Farmácia, e em especial ao meu colega Albertino Freitas, por me auxiliar na manipulação do extrato de Aroeira.

À banca de qualificação de Mestrado, Prof. Dr. **Silvio Albergaria**, Prof.^a Dr.^a **Juliana Monteiro** e Prof.^a Dr.^a **Aparecida M^a Cordeiro Marques**, pela análise criteriosa e importantes sugestões atribuídas a este trabalho.

Ao **Instituto de Ciências da Saúde (ICS)** da Universidade Federal da Bahia, onde eu tive a honra de ter minhas orientações teóricas durante o mestrado, com um corpo docente maravilhoso.

À **Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia**, na pessoa de seu diretor. Prol. Dr. Marcel Lautenschlager Arriaga. onde recebi todas as condições para realização deste trabalho.

A **Capes**, pela concessão da bolsa que me auxiliou na realização dessa pesquisa.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho.

"A alegria não chega apenas no encontro do achado, mas faz parte do processo da busca. E ensinar e aprender não pode dar-se fora da procura, fora da boniteza e da alegria." Paulo Freire

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
ABREVIATURAS.....	11
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELA.....	13
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 TRATAMENTO ENDODÔNTICO.....	16
2.2 MEDICAÇÃO INTRACANAL.....	18
2.3 ENTEROCOCCUS FAECALIS.....	19
2.4 FITOTERAPIA.....	22
2.5 FITOTERAPIA NA ODONTOLOGIA.....	24
2.6 SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI.....	25
3 OBJETIVO	28
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1 PREPARO DO EXTRATO BRUTO DE AROEIRA.....	29
4.2 SELEÇÃO, PREPARO DO INÓCULO E TESTE DE DIFUSÃO.....	30
4.3 PREPARO DOS ESPÉCIMES.....	31
4.4 INCLUSÃO EM PLACAS DE POLIESTIRENO.....	33
4.5 CONTAMINAÇÃO DOS DENTES.....	34
4.6 COMPROVAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DOS DENTES NA LUZ DO CANAL RADICULAR.....	34
4.7 DIVISÃO DOS GRUPOS DAS AMOSTRAS.....	36
4.8 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA APÓS TRATAMENTO.....	36
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
5 RESULTADOS	38
5.1 TESTE DE DIFUSÃO EM ÁGAR.....	38
5.2 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA APÓS TRATAMENTO COM 7 DIAS.....	38
5.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA APÓS TRATAMENTO COM 15 DIAS.....	41
6 DISCUSSÃO.....	44
7 CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS.....	49
APÊNDICE.....	58

MATTOS, Maiana M^a Rios Siqueira Mattos. Uma Nova Abordagem para o Tratamento de Infecções Endodônticas Persistentes com o Uso do Extrato de Aroeira Bruto a 50% frente a uma Cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. 61 f. 2015. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

RESUMO

Este estudo *in vitro* e *ex vivo* buscou avaliar a eficácia antimicrobiana do Extrato bruto de Aroeira a 50% frente a uma cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Para o estudo *in vitro*, foi realizado teste de difusão em Ágar para verificar o grupo com maior halo de inibição, o que foi observado no extrato bruto a 50% de Aroeira. Em seguida, para o estudo *ex vivo*, foram utilizados 40 (quarenta) dentes humanos unirradiculares tratados endodonticamente e fixados em placas de 24 poços. Os espécimes foram aleatoriamente divididos em quatro grupos com 10 (dez) dentes cada, de acordo com a medicação intracanal utilizada: CO - grupo controle; PA - grupo com medicação de Hidróxido de Cálcio PA + anestésico; CA - grupo com medicação Calen PMCC e EA - grupo com medicação de Extrato Bruto 50% de Aroeira. Posteriormente, os espécimes foram contaminados com *E. faecalis* (ATCC 29212) e incubados a 37°C durante 21 dias. A cada dois dias, houve adição do caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) em cada dente, além da troca de água nos poços, fornecendo assim nutrição e umidade para o crescimento bacteriano. As amostras foram coletadas após 7 (sete) e 15 (quinze) dias com o auxílio de cones de papel estéreis e submetidas à cultura de placas de Petri contendo Ágar BHI. Após 24 horas de incubação, o crescimento bacteriano foi verificado através da contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL). A análise dos dados mostrou que houve significativa redução dos microorganismos nos grupos PA, CA e EA, se comparado ao controle CO com $p < 0,0001$. Observou-se ainda uma diferença estatística entre o PA e CA, com $p < 0,0071$, porém não houve diferença estatística entre CA e EA. Portanto, pode-se concluir que o Extrato Bruto de Aroeira a 50% (oitenta por cento) possui eficácia antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis*. Sugere-se a realização de estudos clínicos com o extrato pesquisado de modo a fundamentar os efeitos antimicrobianos desta terapia fitoterápica.

Palavras-chave: Endodontia, Medicação Intracanal, Infecções Endodônticas persistentes, Fitoterapia, Extrato de Aroeira

MATTOS, Maiana M^a Rios Siqueira Mattos. Uma Nova Abordagem para o Tratamento de Infecções Endodônticas Persistentes com o Uso do Extrato de Aroeira Bruto a 50% frente a uma Cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. 61 f. 2015. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

ABSTRACT

This research *in vitro* and *ex vivo* was to evaluate the antimicrobial efficacy of the extract of Aroeira 50% against strain of *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). For the *in vitro* study, it was performed diffusion in Ágar to verify the group with the largest inhibition zone, which was observed in Extract of Aroeira 50%. Then, for the *ex vivo* study, were used 40 single-rooted human teeth endodontically treated and fixed in 24 well plates. The specimens were randomly divided into four groups of ten (10) teeth each, according to intracanal medicament: CO - control group; PA - group with Calcium Hydroxide medication PA + anesthetic; CA - group with Calen PMCC medication and EA - Group with gross extract medication 50% of Aroeira. Subsequently, samples were contaminated with *E. faecalis* (ATCC 29212) and incubated at 37 ° C for 21 days. Every two days there was addition of BHI (Brain Heart Infusion) on each tooth beyond the exchange of water in the wells, thereby providing nutrition and moisture for bacterial growth. The samples were collected after 7 days and 15 days with the aid of sterile paper points and subjected to culture in Petri dishes containing agar BHI. After 24 hours of incubation, the bacterial growth was observed by counting the colony forming units (CFU / mL). Data analysis showed that there was significant reduction of microorganisms in PA, CA and EA groups when compared to the CO control with $p < 0.0001$. It was also observed a statistical difference between PA and CA, with $p < 0.0071$, but there was no statistically difference between CA and EA. Therefore, it can be concluded that the Extract of Aroeira 50% has antimicrobial effectiveness to *Enterococcus faecalis*. However more study should be carried out so as to substantiate the elements that promote these antimicrobial effects of this new herbal therapy.

Keywords: Endodontics, Root Canal Medication, Persistent Endodontic Infections, Herbal Medicine, Extract of Aroeira.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Infusão de cérebro e coração (brain heart Infusion)
CLX	Clorexidina
CONBRAFITO	Conselho Brasileiro de Fitoterapia
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
NaOCl	Hipoclorito de Sódio
OMS	Organização Mundial de Saúde
<i>p</i>	<i>nível de significância</i>
PA	Pró- Análise
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial hidrogeniônico
PMCC	Paramonoclorofenol Canforado
SUS	Sistema Único de Saúde
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS
UFC	Unidade formadora de Colônia
UFC/mL	Unidade formadora de colônia por mililitro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1a	Schinus Terebenthifolius Raddi Ramo Apical / 26
Figura 1b	Folha de Aroeira /26
Figura 2	Biologicamente Ativos Encontrados nos Extratos / 26
Figura 3a	Poços Equidistantes para Halos de Inibição / 31
Figura 3b	Fluxo Laminar / 31
Figura 4	Padronização das Amostras / 32
Figura 5	Vedamento Apical das Amostras / 33
Figura 6	Esquema de Distribuição das Amostras / 33
Figura 7	Inclusão das Amostras na Placa de Poliestireno / 34
Figura 8	Cones de Papel Esterilizados no Interior das Amostras / 35
Figura 9	Teste de Turbidez / 35
Figura 10	Contagem de UFC / 37
Figura 11	Resultado do Halo de Inibição / 38
Figura 12	Análise Estatística Após 7 Dias / 39
Figura 13	Análise Estatística Entre os Grupos PA X CA / 40
Figura 14	Análise Estatística Entre os Grupos EA X CA / 40
Figura 15	Análise Estatística Entre os Grupos PA X EA / 41
Figura 16	Análise Estatística Após 15 Dias / 41
Figura 17	Análise Estatística Entre os Grupos CO X EA / 42
Figura 18	Análise Estatística Entre os Grupos CO X CA / 42
Figura 19	Análise Estatística Entre os Grupos CO X PA / 43

LISTA DE TABELA

Tabela 1 Divisão dos Grupos / 36

1 INTRODUÇÃO

Dentre os principais objetivos da Endodontia está a promoção da completa sanificação do sistema de canais radiculares. O preparo químico mecânico durante a terapia endodôntica é um dos fatores responsáveis pela redução dos microorganismos existentes no sistema de canais radiculares. Na maioria das situações clínicas, este procedimento é suficiente para obter sucesso e garantir a reparação tecidual.

Em um processo infeccioso, bactérias podem se alojar nas ramificações do canal radicular, nos deltas apicais, e nos túbulos dentinários. Nestes locais, as bactérias podem não ser afetadas pela preparo químico-mecânico do canal radicular. Assim, a utilização de uma medicação intracanal entre sessões pode reduzir ou eliminar a bactéria remanescente, impedindo a reinfecção e favorecendo reparação tecidual.

Embora se reconheça a importância do preparo químico-mecânico, a medicação intracanal é um fator importante na terapêutica endodôntica, já que o sucesso do procedimento está relacionado à redução e/ou eliminação de agentes patogênicos. Entretanto, alguns microrganismos tem se mostrado resistentes a estas medicações intracanaís, o que dificulta o tratamento e favorece as reinfecções e/ou infecções persistentes.

Dentre esses microrganismos está o *Enterococcus faecalis*, um facultativo presente, com certa frequência, em canais infectados, causando infecções persistentes e de difícil tratamento. O *E. faecalis* parece ser altamente resistente aos medicamentos utilizados durante o tratamento, resistindo aos efeitos antibacterianos das medicações intracanal com hidróxido cálcio. Devido a essa sua resistência às medicações intracanaís, diversas associações de antimicrobianos estão sendo propostas com o objetivo de aumentar o espectro de ação e combater a infecção persistente.

Apesar do Hidróxido de Cálcio ter sido a medicação intracanal mais utilizada atualmente devido as suas propriedades, ainda há casos em que este não tem sido capaz de sanar a infecção, devido à presença de bactérias altamente resistentes, sendo provavelmente, esta uma das causas das lesões persistentes.

Por conta dessa resistência de microrganismos frente ao Hidróxido de Cálcio, novas medicações tem sido propostas para criar uma alternativa frente a estas infecções persistentes e/ou refratárias. Dentre essas medicações, pode-se citar as plantas medicinais, que vem sendo utilizadas por apresentarem potenciais terapêuticos. Entretanto, apesar das inúmeras possibilidades de uso de plantas medicinais na Odontologia, estas têm sido pouco exploradas, seja para tratar doenças bucais ou sistêmicas que repercutem em alterações na saúde bucal (SANTOS, *et al.*, 2009).

Dentre dessas plantas está a *Schinus terebinthifolius Raddi*, pertencente à família *Anacardiaceae*, conhecida popularmente como aroeira, aroeira-da-praia e bálsamo. A *Schinus terebinthifolius Raddi* é amplamente utilizada na medicina popular e atualmente como fitomedicamento pelas suas propriedades antimicrobiana, cicatrizante e anti-inflamatória (GILBERT; FAVORETO, 2011). De acordo com sua propriedade antimicrobiana, esta planta chama atenção para uma possível alternativa no tratamento de infecções endodônticas persistentes, tendo sido escolhida como medicação experimental para o presente estudo.

Dentro deste contexto, o presente estudo teve como principal objetivo avaliar a ação antimicrobiana do extrato bruto hidroglicólico das folhas de *Schinus terebinthifolius Raddi* (Aroeira) frente a uma cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), visando uma alternativa medicamentosa no tratamento de infecções endodônticas persistentes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tratamento Endodôntico

A infecção bacteriana desempenha um papel importante no desenvolvimento de necrose pulpar e na formação de lesões periapicais, portanto, o principal objetivo do tratamento endodôntico é a eliminação da infecção bacteriana, da inflamação do tecido pulpar e também a remoção mecânica do tecido danificado no interior do canal que atua como um meio de crescimento de microrganismos (SIQUEIRA, 2002; OLIVEIRA et al., 2010). Ademais, a complexidade do sistema de canais radiculares, com a presença de istmos, ramificações, reentrâncias e túbulos dentinários, também é um obstáculo para a correta limpeza e sanificação (OLIVEIRA et al., 2010).

O preparo do sistema de canais radiculares é reconhecido como sendo uma das etapas mais importantes no tratamento endodôntico (SCHILDER, 1974; RUDDLE, 2001), que elimina os microrganismos e a prevenção de uma reinfecção é alcançada através de uma medicação intracanal e de uma restauração coronária. (HULSMANN et al., 2005). Tais procedimentos incluem uma combinação de limpeza química envolvendo a irrigação com um agente desinfetante tal como hipoclorito de sódio, e o tratamento mecânico com instrumentos que debridam o canal radicular e produzem uma modelagem e a aplicação de uma medicação intracanal contendo um agente antimicrobiano. (BAHCALL; BARSS, 2000; SEDGLEY, 2004)

A combinação do preparo dos canais radiculares, uso de soluções irrigadoras, medicação intracanal e uma adequada obturação do sistema de canais radiculares, é fundamental para se atingir o sucesso no tratamento (SILVA *et al.*, 2010).

Dentro dos princípios básicos que norteiam a terapia endodôntica encontram-se como requisitos fundamentais a limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares para se obter a sanificação desejada e propiciar condições para que os tecidos envolvidos retornem ao seu estado normal. (DOTTO; TRAVASSO; FERREIRA, 2006). A ação mecânica dos instrumentos endodônticos associada às propriedades químicas e físicas das soluções auxiliares promovem a redução de agentes irritantes como bactérias e seus subprodutos, restos de tecido pulpar e

dentina contaminada, proporcionam um ambiente favorável ao reparo dos tecidos periapicais (SIQUEIRA Jr. et al., 1997; FERREIRA, 2005).

O preparo químico mecânico propicia uma notável redução no número de microrganismos nos canais radiculares (SILVA *et al.*, 2010). Contudo, esta redução é apenas temporária, uma vez que os microrganismos restantes se proliferam rapidamente entre as sessões (BYSTROM; SUNDQVIST, 1981; SOARES; CÉSAR, 2001; SOARES *et al.*, 2005; SYDNEY *et al.*, 2006; VIANNA, 2006; BALAL *et al.*, 2007; MATOS NETO, 2007). Associado a isso tem-se a complexidade anatômica dos canais radiculares e as limitações de acesso dos instrumentos e dos materiais irrigantes que podem favorecer o crescimento de microrganismos (HARTMANN, 2006; BALAL *et al.*, 2007; SYDNEY *et al.*, 2008).

A substância química ideal deve possuir forte efeito antibacteriano, dissolver tecidos necróticos e não lesar os tecidos periapicais (PRETEL *et al.*, 2011). As substâncias químicas auxiliares assumem extrema relevância na limpeza e na desinfecção do conduto radicular (MATOS NETO, 2007). São chamadas de auxiliares por colaborarem para o processo de limpeza dos sistemas de canais, auxiliando na remoção de raspas de dentinas e restos orgânicos e inorgânicos (SYDNEY *et al.*, 2006).

Através de uma pesquisa utilizando 55 raízes de dentes de cães portadores de lesões periapicais, dividindo-os em cinco grupos experimentais de acordo com a substância química empregada durante o preparo mecânico: GI - solução salina; GII - natrosol gel; GIII - NaOCl 2,5%; GIV - CHX 2% gel; GV - CHX 2% solução, pode-se comprovar um maior potencial antimicrobiano nos grupos de NaOCl 2,5% e CHX gel 2% contra patógenos endodônticos *in vivo* (MARTINHO *et al.*, 2011).

O hipoclorito de sódio nas diferentes concentrações é a solução irrigadora de escolha na Endodontia devido principalmente a sua alta capacidade de dissolver material orgânico (CÂMARA *et al.*, 2010; PRETEL *et al.*, 2011; ZAPPELINI, 2011). A concentração mais indicada nas necroses é 2,5% a 5,25%, por apresentar melhor efeito antimicrobiano frente a micro-organismos resistentes como o *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, porém menores concentrações como 0,5% e 1% podem ser usadas nas biopulpectomias (PRETEL *et al.*, 2011). Entretanto, o hipoclorito de sódio não consegue dissolver partículas inorgânicas e prevenir a formação do *smear layer* durante a instrumentação dos canais radiculares. Agentes desmineralizantes

ou quelantes como o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) são utilizados como coadjuvantes no tratamento endodôntico de canais radiculares infectados, de canais atresiaados e calcificados e para remoção do *smear layer* superficial (SOUZA; MACHADO; MASSARO, 2007; CÂMARA *et al.*, 2010; ZAPPELINI, 2011).

Atualmente, a técnica de instrumentação coroa-ápice tem sido a mais utilizada na clínica endodôntica (CERQUEIRA *et al.*, 2007), através de um pré-alargamento do terço coronário, facilita a passagem dos instrumentos endodônticos em direção ao ápice, estabelecendo o comprimento de trabalho e a patência apical (FLANDERS, 2002). O preparo do canal radicular no sentido coroa-ápice objetiva um ato operatório mais fácil e, ao mesmo tempo, mais seguro principalmente em casos de dentes com necrose, por possibilitar a realização da penetração desinfetante com menor risco de extrusão de restos necróticos (ENDO, 2009).

2.2 Medicação Intracanal

Apesar de fatores não microbianos estarem implicados no insucesso do tratamento endodôntico, a literatura sugere que tratamentos mal conduzidos em infecções persistentes intrarradiculares e infecções secundárias são as principais causas do fracasso endodôntico (SIQUEIRA, 2001; EVANS *et al.*, 2002).

O preparo químico mecânico é capaz de reduzir significativamente os microrganismos dos canais. No entanto, a eliminação completa de bactérias nem sempre é alcançada na prática clínica devido às complexidades anatômicas de canais radiculares e conseqüentes limitações de acesso dos instrumentos e irrigantes (VIANNA 2006; BALLAL *et al.* 2007; ESTRELA *et al.*, 2009).

O Hidróxido de cálcio é amplamente utilizado como medicação intracanal no tratamento endodôntico, obtendo excelentes resultados clínicos. Ele apresenta um pH elevado e duas importantes propriedades: a inativação de enzimas bacterianas, com o efeito antibacteriano, e a ativação de enzimas teciduais, com ação mineralizante, estimulando a formação de tecido duro (ESTRELA *et al.*, 1998; BALLAL *et al.*, 2007; SILVA *et al.* 2010).

Através de uma análise de estudos longitudinais de uma revisão sistemática quantitativa de resultados de várias investigações, pôde-se concluir que o preparo químico mecânico, com uma desinfecção adequada e medicação

intracanal complementar reduz a população bacteriana e favorece o prognóstico. Entretanto a eficácia antimicrobiana intracanal de medicamentos no biofilme bacteriano ainda precisa ser confirmada (ESTRELA *et al.*, 2009).

A eficácia das diversas pastas de hidróxido de cálcio associadas ao preparo químico mecânico foi avaliada sobre *Enterococcus faecalis* cultivados no interior dos canais radiculares. Como resultados, as pastas de hidróxido de cálcio demonstraram efeitos adjuvantes importantes na eliminação dos *Enterococcus* durante o preparo químico mecânico dos sistemas de canais radiculares (LANA *et al.*, 2009).

LEONARDO *et al.*, (1999), constataram por meio de um estudo *in vitro*, no qual avaliou a atividade antimicrobiana de algumas pastas a base de hidróxido de cálcio, que os microrganismos foram inibidos por todas as pastas avaliadas. Esse dado foi corroborado por WECKWERTH *et al.* (2011), que através de um estudo utilizando pastas de hidróxido de cálcio em três veículos diferentes demonstraram grande eficácia contra todas as cepas de *E. faecalis* após contato direto *in vitro* com o microrganismo. No entanto, para SYDNEY (1996), ESTRELA *et al.* (1998), PETER *et al.* (2002), ALAM *et al.* (2005), WALTIMO *et al.* (2005), o hidróxido de cálcio não é efetivo frente aos *Enterococcus faecalis*.

FERREIRA (2010), através de um estudo realizado com diferentes cepas de *Enterococcus faecalis*, afirma que tanto o hidróxido de cálcio quanto a clorexidina, quando empregados isoladamente como medicação intracanal entre as sessões, não apresentam atributos suficientes para conter a infecção endodôntica de maneira satisfatória, torna-se considerável a busca de estratégias que contemplem os objetivos do tratamento endodôntico.

Com base na atualidade, o Hidróxido de Cálcio tem eficácia limitada na eliminação de bactérias do canal radicular humano quando avaliados por técnicas de cultura. A busca de um melhor protocolo antibacteriano deve continuar para garantir que as bactérias sejam erradicada, de forma confiável, antes da obturação. (SATHORN *et al.*, 2007; SILVA *et al.* 2010)

2.3 Enterococcus faecalis

As bactérias do gênero *Enterococcus* são Gram-positivas, anaeróbios facultativos, em forma de cocos e frequentemente encontradas no trato

gastrointestinal, genitourinário e cavidade oral (JETT; HUYCKE; GILMORE, 1994; BONTEN; WILLEMS; WEINSTEIN, 2001; KAYAOGLU; ORSTAVIK, 2004; MURRAY *et al.*, 2004; FISHER; PHILLIPS, 2009). Neste gênero, o *Enterococcus faecalis* é considerado o mais representativo, devido a frequência de isolados e a sua resistência à antibióticos (KAYAOGLU; ORSTAVIK, 2004; FISHER; PHILLIPS, 2009).

O *Enterococcus faecalis* corresponde a uma porcentagem muito pequena da microbiota bacteriana inicial de dentes com polpas necróticas sem tratamento (SUNDQVIST *et al.* 1998). Entretanto, têm sido relacionado nas infecções endodônticas, comumente isoladas de infecções persistentes e infecções pós-tratamento, causando infecções de difícil tratamento (MOLANDER *et al.* 1998; SUNDQVIST *et al.* 1998; SIQUEIRA, 2002; DOTTO *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2010).

Numa revisão sistemática realizada em 2007 para identificar estudos clínicos que comparavam a microbiologia dos canais pré e pós medicados e com base nas atuais evidências disponíveis, Sathorn *et al.* concluíram que o hidróxido de cálcio tem eficácia limitada na eliminação de bactérias no canal radicular. A busca por um melhor protocolo antibacteriano deve continuar a assegurar que bactérias sejam erradicadas previamente à obturação.

Amostras de canais radiculares foram tiradas de 22 dentes com lesões perirradiculares persistentes lesões com indicação para re-tratamento. O DNA foi extraído das amostras e analisadas pelo PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Todas as amostras foram positivas para, pelo menos, uma espécie microbiana. O *Enterococcus faecalis* foi a espécie mais predominantemente detectado em 77% dos casos, seguido por outras quatro espécies anaeróbias: *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Propionibacterium propionicum*, *Dialister pneumosintes* e *Filifactor alocis* (SIQUEIRA; ROÇAS, 2004).

Através de um estudo com de 36 dentes com periodontite apical refratária, foi analisada a microbiota periapical. Nenhum dos dentes tinham respondido ao tratamento endodôntico convencional ou a longo prazo (> 6 meses) com hidróxido de cálcio. Como resultado, demonstrou-se uma grande variedade de microrganismos, compreendendo bactérias facultativas e anaeróbias, bem como as leveduras, remanescentes em lesões endodônticas periapicais refratárias. Nesta flora, 79,5% das cepas foram Gram-positivas e em 75% dos casos foram detectados

microrganismos como *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Sphingomonas*, e *Candida* (SUNDE *et al.*, 2002).

Dentes anteriores superiores humanos extraídos foram inoculados com cepas de *E. faecalis* e incubados a 37 ° C durante 21 dias. Os dentes infectados foram divididos em 6 grupos com 12 dentes cada e submetidos a medicação intracanal Hidróxido de Cálcio e a dois tipos de antibióticos, a eritromicina e oxitetracilina durante 5 e 10 minutos. Verificou-se que o medicamento intracanal Hidróxido de Cálcio não foi eficaz em erradicar *E. faecalis* nos túbulos dentinários após 5 e 10 minutos de exposição. Além disso, a eficácia antimicrobiana de ambos os antibióticos mostrou ser mais eficaz do que o Hidróxido de Cálcio, mas nenhuma foi capaz de erradicar completamente biofilme de *E. faecalis* em túbulos dentinários (CHAI *et al.*, 2013).

Uma cepa de *E. faecalis* foi exposta a concentrações subletais em uma solução de hipoclorito de sódio 0,005%, uma solução de hidróxido de cálcio com pH 11,1 e pH 11,5 e água deionizada para o grupo controle durante 15 e 30 min com o intuito de determinar os mecanismos de sobrevivência do *E. faecalis* ao elevado pH do hidróxido de cálcio. Posteriormente, a contagem de células viáveis foram de UFC foi determinada depois da incubação durante 48 horas a 37°C. Foi comprovado que *E. faecalis* é resistente ao hidróxido de cálcio com pH igual ou inferior 11,1. Uma resposta adaptativa em pH alcalino e a síntese de proteínas induzida pelo estresse parecem desempenhar papéis menores na sobrevivência de células, no entanto, uma bomba de prótons funcional com a capacidade de acidificar o citoplasma é fundamental para a sobrevivência de *E. faecalis* a pH elevado (EVANS *et al.*, 2002).

Enterococcus abrangem espécies patogênicas, sobretudo *E. faecalis*, presentes em infecções endodônticas e periapicais persistentes. Características microbiológicas, bem como seus fatores de virulência, determinam a patogenicidade de *E. faecalis*, o que se traduz em condições clínicas pouco favoráveis e persistência das infecções, mesmo quando o retratamento é instituído. (PARADELLA *et al.*, 2007). O *Enterococcus faecalis* foi selecionado para o presente estudo devido ao fácil cultivo, resistência considerável ao preparo químico mecânico e às medicações intracanaís, resistindo ao efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio (SATO *et al.*, 1996; SIQUEIRA; UZEDA, 1996; WALTIMO *et al.*, 1999; MATOS NETO, 2007).

Nacif e Alves (2010) demonstraram a importância do *E. faecalis* para endodontia, evidenciada pela sua alta prevalência em infecções secundárias e persistentes do sistema de canais radiculares, enfatizando suas características gerais, fatores de virulência, resistência a antimicrobianos, prevalência nos casos de fracasso do tratamento endodôntico e a utilização em pesquisa na Endodontia.

Por estes aspectos, sua elevada resistência e sua forte correlação com o fracasso do tratamento endodôntico, o *E. faecalis* foi escolhido como modelo microbiano neste estudo com o intuito de avaliar a atividade antimicrobiana de diferentes medicações intracanal.

2.4 Fitoterapia

O Conselho Brasileiro de Fitoterapia (Conbrafito, 2015) considera “fitoterapia” a utilização de plantas medicinais ou bioativas, ocidentais e/ou orientais, in natura ou secas, plantadas de forma tradicional, orgânica e/ou biodinâmica, apresentadas como drogas vegetais ou drogas derivadas vegetais, nas suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas e preparadas de acordo com experiências populares tradicionais ou métodos modernos científicos.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2004), as plantas medicinais são aquelas capazes de aliviar ou curar enfermidades e têm tradição de uso como remédio em uma população ou comunidade. A partir do momento que a planta medicinal é industrializada para se obter um medicamento, tem-se como resultado o fitoterápico. Esses fitoterápicos industrializados devem ser registrados na Anvisa/Ministério da Saúde antes de serem comercializados.

Os avanços implementados pelo surgimento do Sistema Único de Saúde (SUS) e o envolvimento de diversos setores da sociedade permitiram a elaboração de políticas específicas projetado para incorporar a fitoterapia ao SUS através da "Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares Práticas do SUS: Plantas Medicinais e Fitoterapia (BRASIL, 2006; ALMEIDA et al., 2014). A criação destas políticas públicas permitiu o uso de fitoterápicos, com o objetivo principal de ampliar as opções terapêuticas em saúde pública básica (ALMEIDA et al., 2014).

Através da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (BRASIL, 2006), o Ministério da Saúde busca a ampliação das opções terapêuticas

ofertadas aos usuários do Sistema Único de Saúde, com garantia de acesso a plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à fitoterapia, com segurança, eficácia e qualidade, na perspectiva da integralidade da atenção à saúde

Apesar das plantas medicinais estarem sempre presentes na História do Brasil, ainda existe um pequeno número de fitoterápicos totalmente desenvolvidos no Brasil, devido a alguns fatos, como legislação deficiente, falta de cooperação entre as diversas áreas, dificuldade na realização de parcerias entre universidades e empresas e investimentos públicos insuficientes (ALVES, 2013).

A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2011), considerando as plantas medicinais como importantes instrumentos da assistência farmacêutica, por meio de vários comunicados e resoluções, expressa sua posição a respeito da necessidade de valorizar a sua utilização no âmbito sanitário ao observar que 70% a 90% da população nos países em vias de desenvolvimento depende delas no que se refere à Atenção Primária à Saúde.

O uso da fitoterapia no SUS pode ser uma alternativa para a redução dos gastos públicos com tratamentos e com medicamentos, aliando sua eficácia comprovada, menor incidência de efeitos colaterais e ampla aceitação dos usuários com o baixo custo operacional (LORENZI; MATOS, 2002; SILVEIRA *et al.*, 2008; SILVELLO, 2010). Entretanto, apesar da crescente busca por integrativas medicamentosas e da evolução na publicação de artigos, os estudos acerca da fitoterapia ainda são precários no Brasil, fazendo-se ainda necessárias pesquisas nesta área (SANTOS *et al.*, 2011; BUFAINO, 2013; GONÇALVES *et al.*, 2013). Além da dificuldade adicionais encontradas pela farmacovigilância de produtos à base de plantas (MOREIRA *et al.*, 2014)

A lista nacional de plantas de interesse para o SUS compreende 71 plantas que potencialmente poderiam produzir produtos de interesse utilizadas frequentemente para fins medicinais no Brasil com potencial de uso em cuidados de saúde primários (BRASIL, 2009). Dentre as espécies mais frequentes em documentos oficiais estão: *Aloe vera*, *Eucalyptus globulus Labill* e *Schinus terebinthifolius* Raddi (ALMEIDA *et al.*, 2014).

A falta de aceitação dos medicamentos à base de plantas medicinais pelos profissionais de saúde é baseado em premissas equivocadas e para tanto, é necessário que estudos sobre a Fitoterapia sejam ofertados a esses profissionais de saúde (CARMONA; PEREIRA, 2013). Os profissionais de saúde, (médicos,

enfermeiros e farmacêuticos) devem exercer atividades em conjunto, buscando a seleção das plantas medicinais e dos fitoterápicos mais apropriados e a implantação, organização e estruturação dos serviços de assistência farmacêutica voltados ao uso racional dos fitoterápicos (GONÇALVES et al., 2013).

2.5 Fitoterapia na Odontologia

Apesar das inúmeras possibilidades de uso de plantas medicinais na odontologia como no controle de formação do biofilme dental, tratamento de afecções bucais e ter algumas vantagens tais como baixo custo e grande efetividade, estas têm sido pouco exploradas, seja para tratar doenças bucais ou para tratar doenças sistêmicas que repercutem em alterações na saúde bucal (SANTOS, et al., 2009). Além de que, a maioria dos cirurgiões-dentistas (76,0%) desconhece as possibilidades de reações adversas e interações medicamentosas (OLIVEIRA, 2010).

Um levantamento etnobotânico sobre a indicação de plantas medicinais para problemas bucais, as plantas de uso odontológico mais vendidas pelos raizeiros foram babatenon (*Pithecelobium avaremotemo* Mart.), aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi), cajueiro roxo (*Anacardium occidentale* L.) e quixaba (*Bumelia sartorum* Mart.). (SANTOS et al., 2009). Entretanto, 70,5% dos usuários que utilizavam medicamentos, também faziam uso de plantas medicinais, ocorrendo um alto índice de automedicação, elevando assim, os riscos de toxicidade, reações adversas e interações medicamentosas (OLIVEIRA, 2010).

Um estudo foi realizado para determinar atividades antibacteriana e antiaderente *in vitro* de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. As tinturas da casca de *S. terebinthifolius* (10%) e parte aérea da *S. microglossa* (25%) foram adquiridas em farmácia de manipulação, sendo produtos comercializados na cidade de João Pessoa, Paraíba, Brasil. As tinturas avaliadas apresentaram, *in vitro*, atividades antibacteriana e antiaderente frente aos microrganismos testados. Além disso, foi pontuada a importância das indicações terapêuticas dos produtos avaliados na clínica odontológica, como método alternativo e de baixo custo na prevenção da cárie dentária (FREIRES et al., 2010).

2.6 *Schinus terebinthifolius* Raddi

A morfologia microscópica de folhas e casca de *Schinus terebinthifolius* Raddi está descrita com 20 figuras por Duarte et al. (2006). (Figura 1)

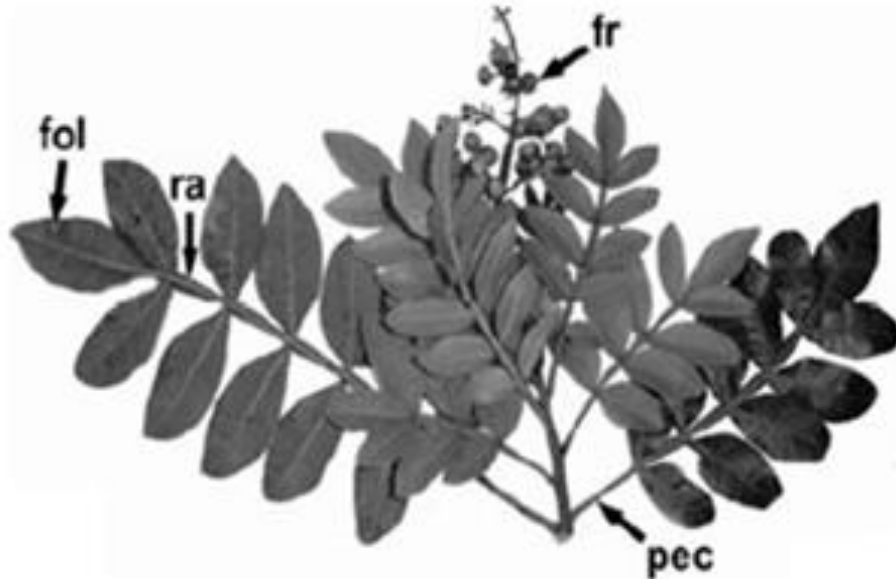


Figura 1 - *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Anacardiaceae*: Ramo Apical, mostrando folhas compostas e frutos (DUARTE et al., 2006); Fol - folíolo, Fr - fruto, Pec - pecíolo, Ra - raque.

A *Schinus terebinthifolius* Raddi é uma planta medicinal conhecida no Brasil como “aroeira vermelha” “aroeira da praia”, pertencente à família *Anacardiaceae*, utilizada na medicina popular como antitérmica, analgésica, depurativa. Na etnobotânica e em resultados de ensaios farmacológicos é citada como cicatrizante, antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante (SALVI JR, 2009; CARVALHO et al., 2013; MIYASATO et al., 2014).

Através de uma análise fitoquímica preliminar dos extratos da *Schinus terebinthifolius* pode-se observar a presença de compostos biologicamente ativos como a saponinas, flavonóides, triterpenos, esteróides e taninos (RESENDE et al., 2007) (Figura 2)

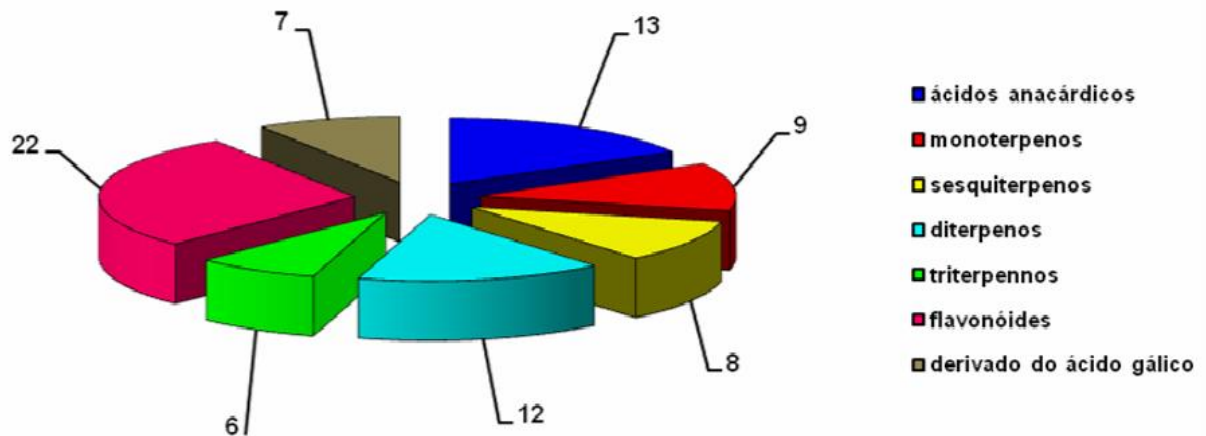


Figura 2 - Classes de metabólitos especiais isolados da espécie *Schinus terebinthifolius*. (HERINGER, 2009)

Guerra *et al.* (2000) avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato etanólico das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi frente a microrganismos: *Staphylococcus aureus* (ATCC 15008); *Escherichia coli* (ATCC 25922); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 14207) e *Candida albicans* (ATCC 10231). Os resultados foram avaliados através da medição do diâmetro do halos de inibição em milímetros (mm) das diferentes concentrações do extrato e indicaram que a uma menor concentração do extrato (preparado com etanol a 1%), houve inibição do crescimento e a resposta foi gradual de acordo com a concentração até 80% (1, 5, 15, 30, 40, 60 e 80%).

Cinquenta ratos machos do tipo *Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia*, *Mammalia* da linhagem *Wistar* foram utilizados para estudar o modo de ação e os efeitos terapêuticos da aroeira, no combate ao processo inflamatório, no processo de reparo do tecido sobre as lesões ulceradas da mucosa bucal do rato. Eles foram divididos em dois grupos, e em seguida foram induzidas na língua dos animais as lesões ulceradas através da aplicação tópica diária de hidróxido de sódio a 40%. Os grupos controles não receberam nenhum tipo de tratamento e os grupos experimentais foram tratados com o extrato da folha de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Na análise dos resultados obtidos do efeito do extrato, observou-se que as úlceras nos grupos experimentais, quando comparadas às dos grupos controles, mostraram fechamento epitelial acelerado, maior proliferação vascular e fibroblástica. A *Schinus terebinthifolius* Raddi mostrou ter efeito positivo no processo de reparo tecidual (RIBAS *et al.*, 2006).

Com o objetivo de avaliar a ação antimicrobiana dos extratos etanólicos da aroeira-da-praia (*Schinus terebinthifolius* Raddi), da aroeira-do-sertão (*Astronium urundeuva*), da ameixa-domato (*Ximenia americana* L.), da quixabeira (*Syderoxylum obtusifolium*) e do hipoclorito de sódio (NaOCl a 2,5%), contra o *Enterococcus faecalis*, foi realizado teste de difusão em ágar, pelo método do poço, utilizando-se como controle positivo a clorexidina a 0,12%. A aroeira-do-sertão e a aroeira-da-praia apresentaram halos de inibição contra o *Enterococcus faecalis* superiores aos demais extratos vegetais testados, em todas as concentrações (100%, 50%, 25%, 12,5% e 6,25%). Conclui-se que todas as substâncias analisadas apresentaram atividade antimicrobiana contra o *Enterococcus faecalis*, sugerindo que podem representar substâncias alternativas no tratamento endodôntico (COSTA *et al.*, 2010).

Vinte ratos machos adultos foram submetidos a incisões na pele e tecido subcutâneo nos lados direito e esquerdo na região do tórax. O tecido foi dissecado e removido, deixando fáscia adjacente exposta. Imediatamente após a excisão cirúrgica os animais receberam as aplicações tópicas das medicações testadas, pomada à base de lanolina e vaselina para o grupo controle e óleo de folha de aroeira para os grupos testados. Após a análise dos resultados obtidos neste experimento concluiu-se que a pomada contendo óleo de aroeira a 5% foi favorável para o processo de reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos (ESTEVÃO *et al.*, 2013).

Para avaliar o efeito antiinflamatório e cicatrizante do Extrato Hidroalcoólico da *Schinus terebinthifolius* Raddi a 30% oralbase, Martorelli *et al.* (2011), utilizaram sessenta ratos Wistar, machos e albinos, que foram submetidos a ferida eletroproduzidas na pele do dorso e divididos em quatro grupos, grupo I (grupo controle), aplicação de uma pomada oralbase; grupo II, extrato hidroalcoólico da *Schinus terebinthifolius* Raddi; grupo III, Acetonido de Triancinolona 1% e grupo IV, Dexpanthenol 5 % oralbase. Depois das análises, os autores puderam concluir que o extrato hidroalcoólico da *Schinus terebinthifolius* Raddi 30% oralbase tem efeito antiinflamatório e cicatrizante em feridas eletroproduzidas em dorso de ratos.

O SUS no Brasil lista a planta *Schinus terebinthifolius* em sua Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS, o RENISUS (Brasil, 2009). Essa relação é constituída de espécies vegetais como potencial de avançar nas etapas da cadeia produtiva e de gerar produtos de interesse ao SUS.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo geral analisar a ação antimicrobiana do extrato da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) frente ao *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) em um estudo *in vitro* e *ex vivo*, através do método de difusão em Agar e da CFU.

3.2 Objetivos Específicos

- Comparar a ação antimicrobiana do extrato de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) a 50% com as medicações utilizadas na clínica odontológica como o Hidróxido de Cálcio e o Calen PMCC;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Preparo do Extrato Bruto 50% de Aroeira

As folhas da espécie *Schinus terebenthifolius* Raddi (Figura 3) foram provenientes do horto do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA) coletadas no mês de dezembro de 2013. Estas foram submetidas à secagem, inicialmente em temperatura ambiente e completada em estufa a 40°C e posteriormente pulverizadas. Após a pulverização, a técnica de granulometria por tamisação foi empregada, utilizando tamises com aberturas de malhas de 2,5; 2,0; 1,6; 1,25; 0,8; 0,5; e 0,25 mm e um coletor. Essa operação de tamisação foi realizada durante 35 minutos a 90 vibrações por minuto. Em seguida, foi realizada a maceração em um percolador de inox com capacidade de 20L, durante 8 dias, utilizando o propilenoglicol na proporção de 50:50 folha/solvente. A percolação ocorre através do arrastamento do princípio ativo pela passagem contínua do líquido extrator, levando ao esgotamento da planta através do gotejamento lento do material.



Figura 3 - Folha de *Schinus terebenthifolius* Raddi proveniente do horto do Instituto de Biologia da Universidade federal da Bahia

4.2 Seleção, Preparo do inóculo e Teste de Difusão

O microrganismo de escolha utilizado para esta pesquisa foi o *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) adquirido na FioCruz-BA.

As culturas de 24 horas foram semeadas em Placa Petri contendo Agar BHI (Himedia Laboratories Ltda., India) e, então incubadas em estufa a 37°C, por 24 horas. Após o crescimento microbiano, foi preparada uma suspensão em tubo contendo 10mL de solução salina esterilizada, até se obter uma turvação compatível com o grau 0,5 da escala McFarland, correspondente a $1,5 \times 10^8$ UFC/m. Em seguida, um swab estéril foi embebido na suspensão bacteriana comprimindo-o contra as paredes do tubo para tirar o excesso da suspensão, e semeado de forma suave em todas direções na placa de Petri contendo Agar BHI, procurando abranger toda a superfície (Técnica de Semeadura Spread-plate ou distensão). Esse procedimento foi realizado em triplicata.

As medicações utilizadas no teste de difusão foram o extrato bruto a 50% da planta aroeira-da-praia (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e as medicações utilizadas na clínica odontológica, o Hidróxido de Cálcio PA com o anestésico e o Calen PMCC.

Com o uso de uma pipeta estéril, foram confeccionados três poços de 4mm em pontos equidistantes na placa de Petri e sob cada poço foi dispensado 50µL de uma mesma medicação, para evitar a sobreposição de halos. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C. Para a amostra de controle a medicação utilizada no poço foi solução salina.

Após 24 horas, foi medido o halo de inibição de cada grupo de amostra (Figura 4). Em seguida, a amostra que obteve maior halo de inibição foi utilizado nas amostras *ex-vivo*, dando sequência a pesquisa.

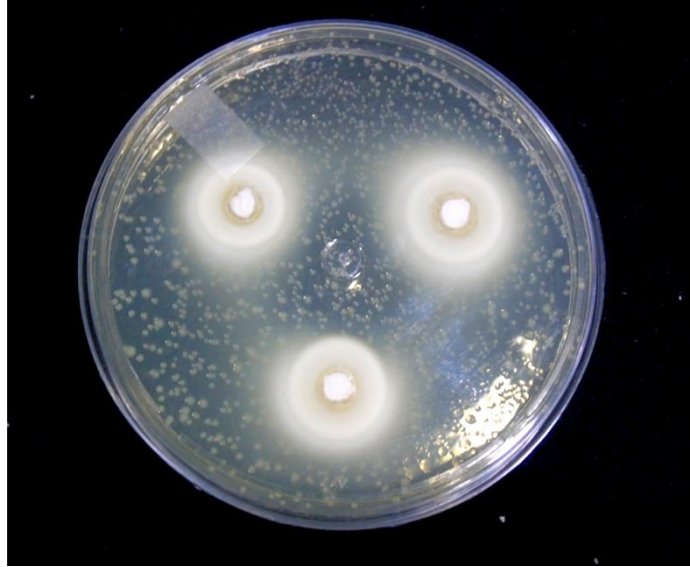


Figura 4 - Três poços equidistantes para verificação dos halos de inibição

Todos os procedimentos foram realizados em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar (Pachane Pa400, Brasil) e em triplicata.

4.3 Preparo dos Espécimes

Este estudo teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Bahia em 2015, número do parecer 1.515.629 (ANEXO 1).

Na realização desse estudo foram utilizados quarenta dentes humanos superiores unirradiculares extraídos por motivos patológicos ou ortodônticos, coletados na disciplina de Cirurgia do Curso de Odontologia da Universidade Federal da Bahia. Os elementos extraídos foram conservados em solução aquosa de timol a 0,1% a 9°C, para mantê-los isentos de proliferação bacteriana e depois foram mantidos durante 07 (sete) dias no soro para hidratá-los.

Os dentes tiveram suas coroas seccionadas ao nível da junção cimento-esmalte com disco Carburundum, acoplado em um mandril em um micromotor (KaVo, Brasil) de maneira que todas as raízes apresentassem um comprimento padronizado de 15mm (Figura 5).

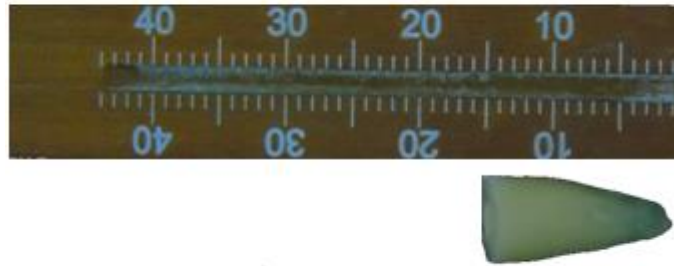


Figura 5 - Padronização de 15mm da raiz da amostra em visão mesial

Com o auxílio de uma lima K (Dentsply-Maillefer®, Ballaigues, Suíça), número 10, cada canal radicular foi explorado em toda a sua extensão até que a lima fosse detectada no forame apical. A partir deste comprimento, o instrumento foi recuado um milímetro a fim de determinar o comprimento de trabalho.

Em seguida, foi realizado o preparo químico-mecânico através da técnica coroa ápice, confeccionando o batente apical. Para irrigação utilizou-se o Hipoclorito de Sódio a 1% entre os instrumentos, EDTA (Biodinâmica Química e Farmacêutica - Paraná - Brasil) a 17% durante 3 minutos, para remoção da camada residual, novamente Hipoclorito de Sódio a 1% e o detergente Tergensol (Inodon Laboratório Industrial Prod Odontológicos - Porto Alegre - Brasil) para lavagem final.

O vedamento do forame apical foi realizado com resina composta fotopolimerizável (NT Premium, Coltene) de acordo com a técnica preconizada para confecção de restaurações dentárias (Figura 6). Em seguida suas raízes foram impermeabilizadas externamente com duas camadas de esmalte de unha, em toda sua extensão radicular, respeitando o tempo de 30 minutos entre as aplicações. Ao final, as amostras foram imersas em um recipiente com água destilada e autoclavadas a 121°C por 15 minutos.

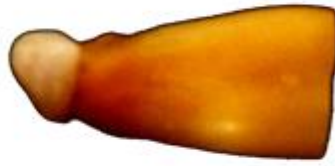


Figura 6 - Vedamento Apical com resina fotopolimerizável

4.4 Inclusão em Placas de Poliestireno

Depois de esterilizadas as amostras foram transferidas, com auxílio de uma pinça, para placas de Petri esterilizadas contendo papel filtro para a secagem das mesmas. Os procedimentos a seguir foram realizados em câmara de fluxo laminar.

Os espécimes foram distribuídos, de forma aleatória, em quatro placas de poliestireno para cultura de células de 24 poços, com 10 espécimes em cada placa, dispostos de modo alternado e intercalado. Nos poços vazios, foi colocada água destilada esterilizada para assegurar a umidade local. A porção apical (5 mm) de cada espécime foi fixada com resina acrílica quimicamente ativada (Figura 7 e 8).

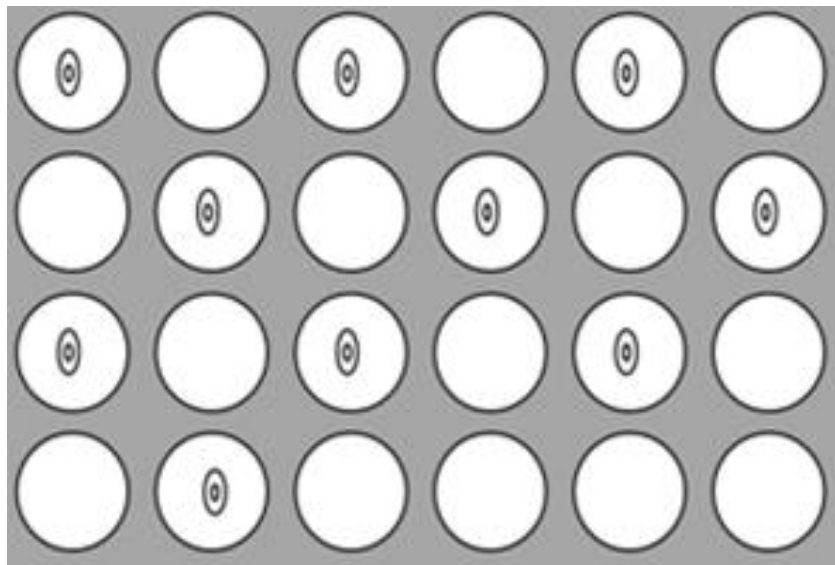


Figura 7 - Esquema da distribuição das amostras nos poços da placa de poliestireno



Figura 8 - Inclusão das amostras na placa de poliestireno

4.5 Contaminação dos espécimes

Com o auxílio de uma pipeta, foram injetados 5 μ L da solução salina contendo a concentração do *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, correspondendo à escala 0,5 de McFarland, dentro do sistema de canais radiculares e uma pequena quantidade de algodão estéril em forma circular foi colocada na entrada do canal de cada amostra.

A tampa da placa foi fechada e o conjunto armazenado em estufa (Ultrasafe, HF 212 UV) a 37°C por 21 (vinte e um) dias. A cada dois dias foram acrescentados 5 μ L de caldo BHI no interior dos canais, com auxílio de uma pipeta, para manter a cultura de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 viável, além de proceder à troca da água destilada.

Esta mesma metodologia foi empregada por Sponchiado Junior (2006), Matos Neto (2007) e Nunes (2008).

4.6 Comprovação da contaminação dos dentes na luz do canal radicular

Após 21 (vinte e um) dias de incubação, foi introduzido no interior de cada canal radicular um cone de papel absorvente estéril durante 1 (um) minuto (Figura 9). Com auxílio de uma pinça esterilizada, cada cone foi transferido para um poço da

placa de 24 poços, contendo 1mL de solução salina esterilizada (Figura 10). As placas foram incubadas e após 24 horas, foi realizada uma avaliação visual de turbidez, sendo confirmado a contaminação dos dentes.



Figura 9 - Cones de papel estéreis no interior dos canais radiculares

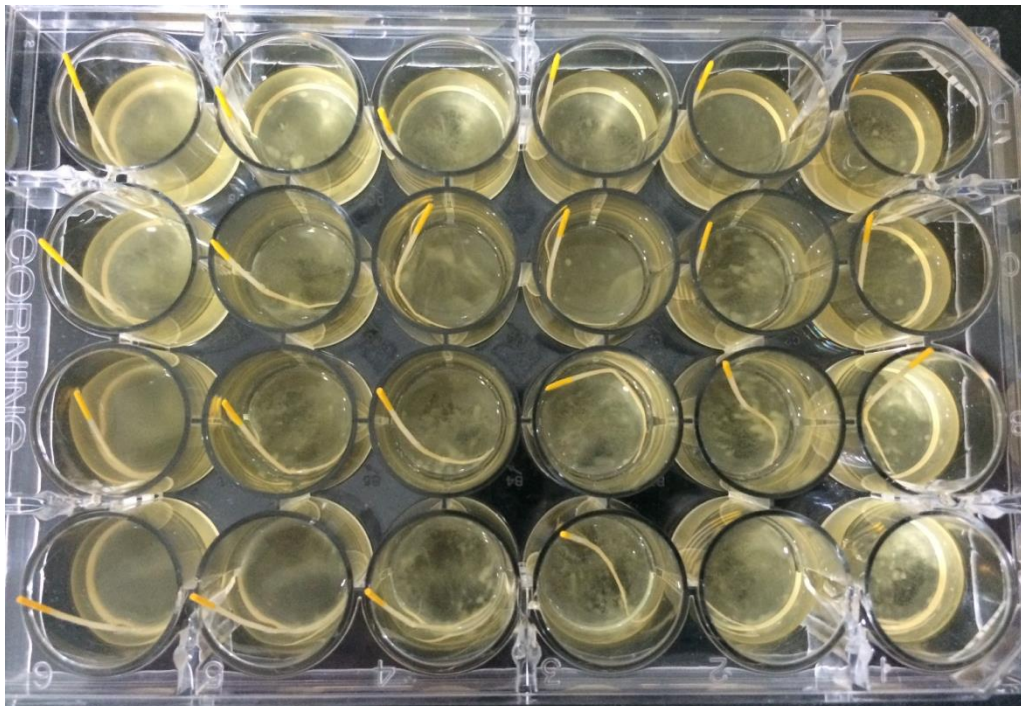


Figura 10 - Teste de Turbidez

4.7 Divisão dos Grupos das Amostras

Após a coleta para comprovação de contaminação, os 40 (quarenta) dentes foram irrigados com 1 mL de solução salina, secos com cones de papel absorvente e divididos aleatoriamente em cinco grupos com dez amostras cada, de acordo com o tratamento a ser realizado (Tabela 1).

- **Grupo CO (n 10):** Grupo Controle, os espécimes não receberam a medicação intracanal.
- **Grupo PA (n 10):** os espécimes receberam a medicação intracanal à base do hidróxido de cálcio PA, utilizando o anestésico como veículo.
- **Grupo CA (n 10):** os espécimes receberam a medicação do Calen PMCC.
- **Grupo EA (n 10):** os espécimes receberam a medicação do Extrato bruto a 50% de Aroeira.

Grupos	n Amostra	Descrição	7 dias	15 dias
CO	10 espécimes	Grupo Controle (sem medicação)	10 espécimes	10 espécimes
PA	10 espécimes	Hidróxido de Cálcio PA + Anestésico	10 espécimes	10 espécimes
CA	10 espécimes	Calen PMCC	10 espécimes	10 espécimes
EA	10 espécimes	Extrato Bruto a 50% de Aroeira	10 espécimes	10 espécimes

Tabela 1 - Divisão dos Grupos

As medicações foram levadas ao canal radicular por meio da penúltima lima utilizada no preparo do canal para os grupos PA e CA, cujas medicações utilizadas tem forma de pasta. Já para o grupo EA, a medicação foi introduzida com o auxílio de uma seringa de insulina (1mL), por esta se apresentar na forma líquida. Os mesmos dentes foram mantidos em estufa a 37°C durante 07 (sete) e depois durante mais 15 (quinze) dias, até a análise microbiológica.

4.8 Análise microbiológica após tratamento

Após 07 (sete) dias com os curativos, as amostras de cada grupo foram irrigados com 5 mL de solução salina esterilizada e um cone de papel absorvente

estéril foi inserido em cada canal radicular, permanecendo por cinco minutos. Posteriormente cada cone foi transferido para uma placa de 24 poços contendo 500µL de solução salina, e após 24 horas de incubação em estufa foi observada a turbidez . A partir de cada poço contendo o cone, com um auxílio de um swab, foi realizado o plaqueamento através da técnica de semeadura por distensão. Após vinte e quatro horas as unidades formadoras de colônias (UFCs) foram contadas (Figura 11). Nos grupos controles também foi realizado a coleta microbiológica das amostras. Os mesmos procedimentos foram realizados após 15 dias como as medicações, para comparar a efetividade nos dois tempos.

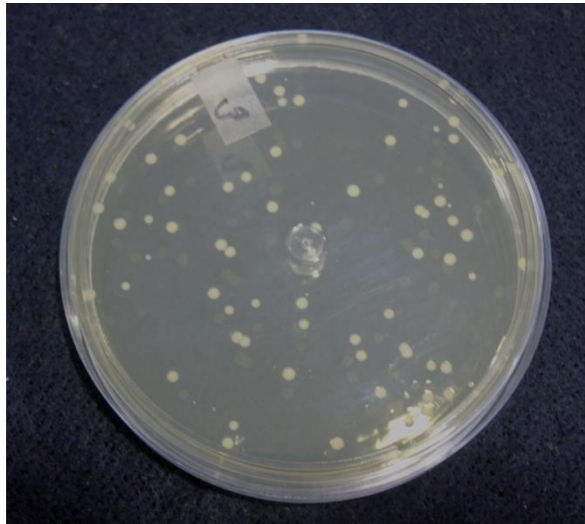


Figura 11 - Crescimento bacteriano no Grupo CA

4.9 Análise estatística

Os dados obtidos, relativos às contagens de unidades formadoras de colônias, foram submetidos à análise estatística através de um software próprio denominado GraphPad Prism.

Para a análise de variância entre todos os grupos utilizou-se o teste ANOVA com pós teste de Tuckey. Para a verificação da diferença entre os grupos utilizou-se o teste *t* Student com pós teste de Mann-Whitney .

5 RESULTADOS

5.1 Teste de difusão em Ágar

A eficácia antimicrobiana dos tratamentos realizados *in vitro* foi avaliada através do halo de inibição. O resultado final foi determinado pela média aritmética dos halos de inibição (Figura 12)

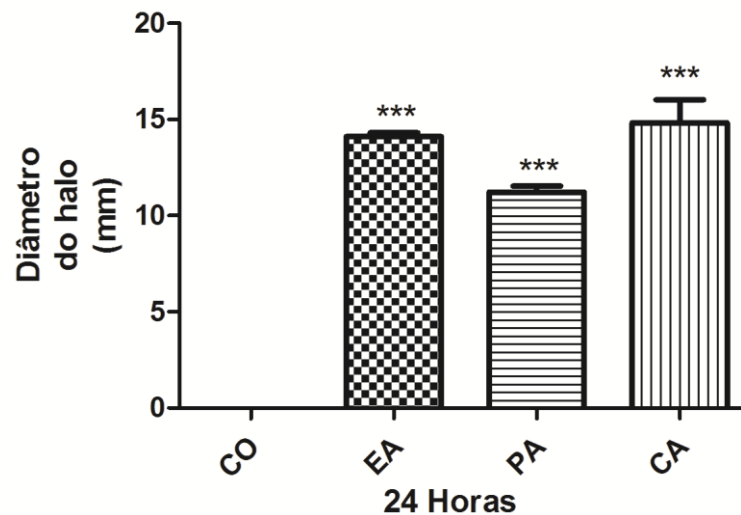


Figura 12 - Resultados do Halo de Inibição

De acordo com os resultados obtidos, houve halo de inibição nos grupos do Extrato Bruto de Aroeira (EA), Hidróxido de Cálcio (PA) e Calen PMCC (CA). Dentre essas medicações, o Calen (CA) apresentou os maiores halos de inibição, com diferença estatisticamente significativa (teste t, $p \leq 0,05$) quando comparado ao grupo PA. Entretanto, não houve diferença significativa entre o grupo EA e o grupo CA.

5.2 Análise microbiológica após tratamento com 7 dias

A eficácia antimicrobiana dos tratamentos realizados nos quatro grupos foi avaliada pela contagem do número de UFC de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

A análise comparativa da redução de *E. faecalis*, entre os quatro grupos, pelo teste ANOVA com pós teste de Tukey mostrou um nível de significância de p valor < 0.0001 . Quando testado após 7 dias indicou uma diferença significativa de todos os grupos com relação ao grupo controle (CO) (Figura 13). Apesar do EA ter

apresentado uma maior redução de UFC, não houve diferença significativa entre este grupo e o Calen (CA) (Figura 13)

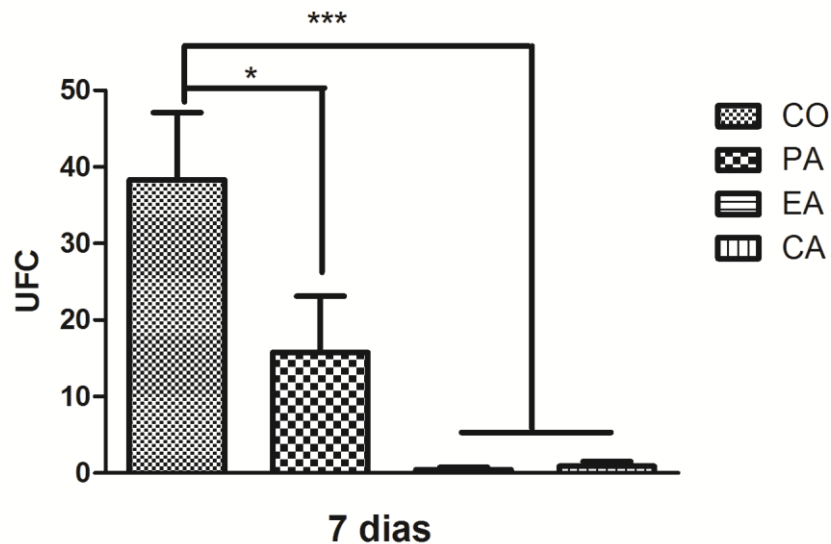


Figura 13 - Análise estatística dos grupos mostrando a eficácia das medicações em relação ao controle ($p < 0,0001$) 7 dias após a medicação intracanal

A análise comparativa da redução de *E. faecalis*, entre os grupos entre si, pelo teste *t* Student com pós teste de Mann Whitney mostrou que, uma análise comparativa entre PA e CA, que são as medicações padrão ouro na Odontologia, houve uma diferença estatística significativa com $p < 0.0071$, sendo a redução maior no CA, confirmando que o grupo PA apresentou o pior resultados entre os todos grupos (Figura 14). Quando comparado o EA com CA, apesar do EA ter apresentado uma maior redução, não houve diferença estatística significativa entre eles com $p < 0.9034$ (Figura 15). Já a comparação entre PA e EA, houve uma redução significativa maior no EA com $p < 0.0032$ (Figura 16).

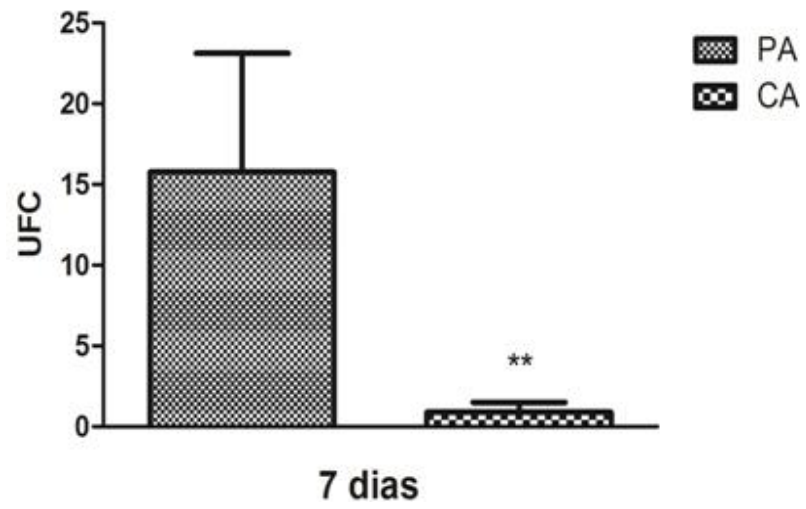


Figura 14 - Análise Estatística entre os grupos PA X CA com $p < 0.0071$ (**);

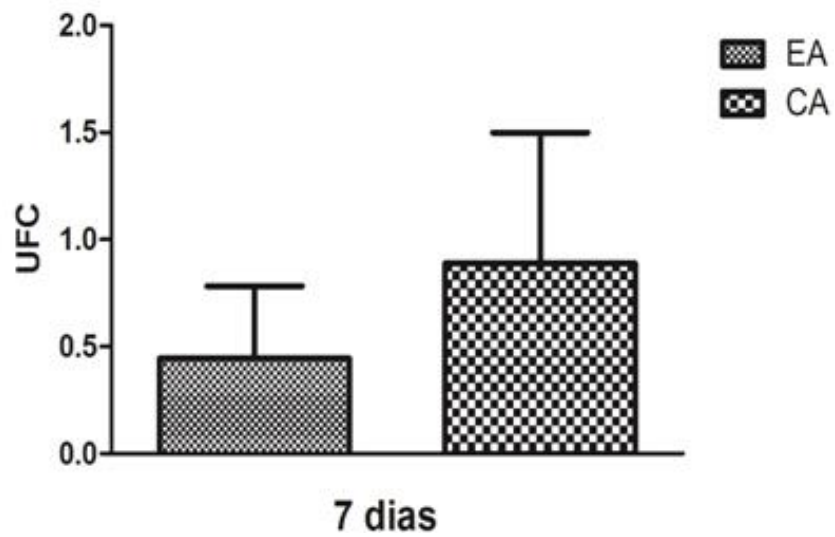


Figura 15 - Análise Estatística entre os grupos EA X CA com $p < 0.9034$;

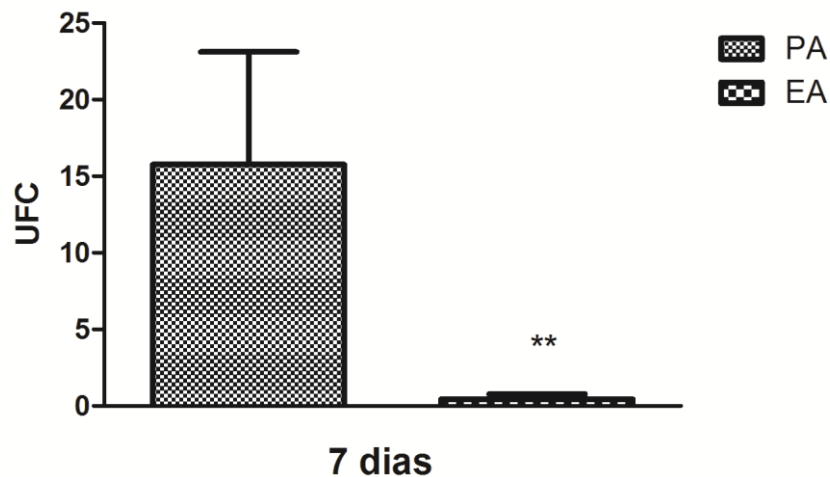


Figura 16 - Análise Estatística entre os grupos PA X EA com $p < 0.0032$ (**)

5.3 Análise microbiológica após tratamento com 15 dias

A mesma análise comparativa foi realizada após 15 dias de tratamento. Através do teste ANOVA com pós teste de Tukey, quando testado após 15 dias, indicou uma pequena diferença entre os grupos com relação ao grupo controle (CO) com um $p < 0.0441$ (Figura 17). Entretanto não houve diferença estatística significativa entre os grupos PA, CA e EA .

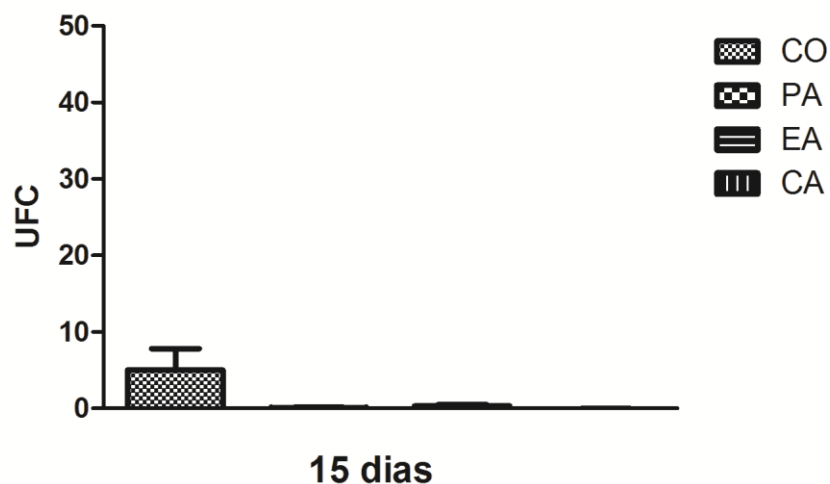


Figura 17 - Análise estatística dos grupos mostrando a eficácia das medicações em relação ao controle ($p < 0.0441$) 15 dias após a medicação intracanal

A análise comparativa da redução de *E. faecalis* após 15 dias, entre os grupos entre si, pelo teste *t* Student com pós teste de Mann Whitney mostrou que,

uma análise comparativa entre CO e EA, houve uma pequena diferença estatística de $p < 0.0202$ (Figura 18). Quando comparado o CO com CA, houve diferença estatística significativa entre eles com $p < 0.0049$ (Figura 19). Já a comparação entre CO e PA, houve diferença estatística significativa entre eles com $p < 0.0062$ (Figura 20).

Apesar de não haver diferença estatística significativa entre os grupos EA, CA e PA, quando comparados cada um com o grupo controle (CO), o que teve o melhor resultado em 15 dias foi o grupo CA, apresentando um $p < 0.0049$ (Figura 19).

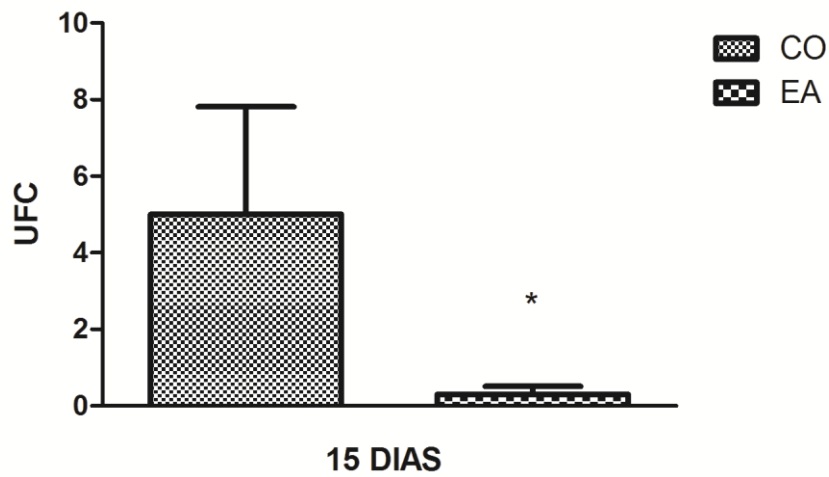


Figura 18 - Análise Estatística entre os grupos CO X EA com $p < 0.0202$ (*);

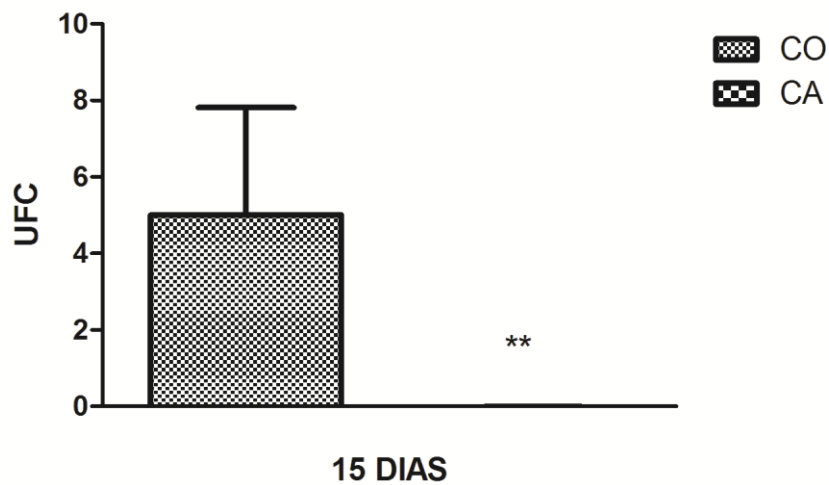


Figura 19 - Análise Estatística entre os grupos CO X CA com $p < 0.0049$ (**)

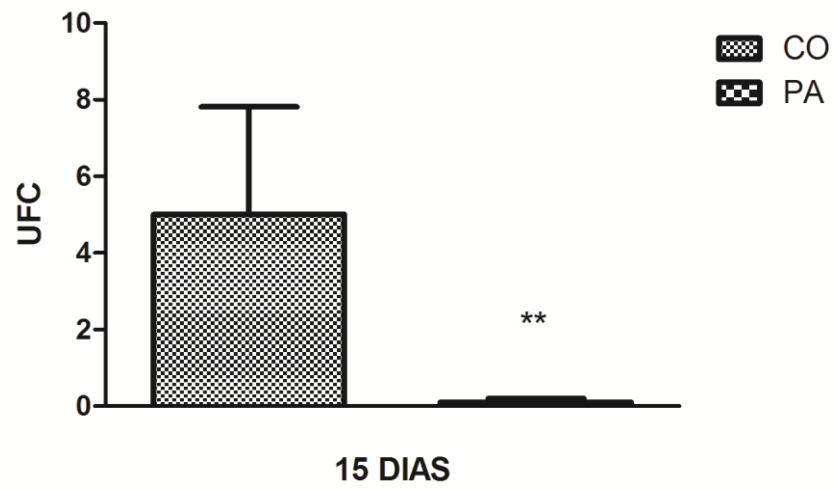


Figura 20 - Análise Estatística entre os grupos CO XPA com $p < 0.0062$ (**)

6 DISCUSSÃO

Apesar dos avanços ocorridos na Endodontia, como novos materiais, técnicas inovadoras e sistema rotatório, ainda assim, o número de insucessos no tratamento endodôntico é alto. Principalmente pela persistência de microrganismos no interior dos túbulos dentinários, o que se torna uma grande preocupação para os endodontistas.

A escolha da cepa de *E. faecalis* (ATCC 29212) para este estudo foi devido ao fácil cultivo, resistência a medicação intracanal e importância clínica em quadros de infecções endodônticas persistentes. Diversos estudos corroboram com esse dado (EVANS et al., 2002; STUART et al., 2006; PARADELLA et al., 2007; LINS et al., 2013; WECKWERTH et al., 2013).

A difusão de hidróxido de cálcio através dos túbulos dentinários, do forame, canais secundários e acessórios permite que esta substância alcance regiões contaminadas por microorganismos, áreas de reabsorção radicular e os tecidos circundantes, promovendo a sua antimicrobiana e ação anti-reabsorção (MORI; FERREIRA; BATISTA; GODOY; NUNES, 2009)

Este estudo avaliou a atividade antimicrobiana de diferentes substâncias empregadas como medicação intracanal e o extrato bruto de Aroeira 50%. A pasta Ca(OH)_2 juntamente com anestésico apresentou menor atuação contra *E. faecalis* avaliados. Este fato pode estar relacionado à sua baixa solubilidade e baixa difusibilidade, o que dificulta a chegada dessa substância aos locais de difícil acesso em dentes que apresentam variações anatômicas, como istmos, deltas apicais, reentrâncias, locais estes onde as bactérias se encontram protegidas da ação das medicações intracanaís (FERREIRA, 2010; GUERREIRO-TANOMARU; FRANCO; AGUIAR; ESPIR; TANOMARU F^o, 2014)

Em contra posto, a pasta Calen é um medicamento à base de Ca(OH)_2 associada a um veículo viscoso (polietilenoglicol 400) que proporciona a liberação mais lenta de íons hidroxila, mantendo sua ação por um período mais longo; além disto, esta associação ocasiona uma diminuição na solubilidade da pasta e aumenta a sua penetrabilidade na dentina radicular. A pasta Calen apresenta alta atividade antibacteriana e biocompatibilidade (GEORGOPOULOU; KONTAKIOTIS; NAKOU, 1993; LEONARDO; HERNANDEZ; SILVA; TANOMARU-FILHO, 2006; GUERREIRO-TANOMARU; FRANCO; AGUIAR; ESPIR; TANOMARU F^o, 2014).

O presente estudo utilizou a pasta Calen associado ao paramonoclorofenol canforado (PMCC), conferindo assim maior espectro de atividade antibacteriana contra alguns anaeróbios facultativos, como o *Enterococcus faecalis*. (LEONARDO, 2005; MORI, FERREIRA, BATISTA, GODOY, NUNES, 2009 ANDOLFATTO, 2011; GUERREIRO-TANOMARU, FRANCO, AGUIAR, ESPIR, TANOMARU F^o, 2014). Segundo os resultados obtidos, o Calen PMCC apresentou os melhores resultados, quando comparados com o grupo controle.

Oliveira et al,(2010) utilizando Pasta Calen e Pasta Calen associada ao paramonoclorofenol canforado verificou que as amostras de *C.albicans*, *B.subtilis* e *E.faecalis*, sendo este último utilizado nos experimentos, mostraram-se sensíveis a estes produtos, sendo estes resultados semelhantes aos nossos.

A redução bacteriana dos canais radiculares promovida pelas medicações intracanal testadas com 7 dias de medicação comprovou que o Hidróxido de Cálcio PA foi o que apresentou o pior resultado, demonstrando que o mesmo não apresenta efeito antibacteriano desejado por este período. O mesmo dado foi confirmado por Montagner et al (2007), que para atingir sua melhor ação antimicrobiana, sugere-se a sua permanência por períodos de 15 a 30 dias no interior do canal radicular, sem trocas.

A baixa eficácia do Hidróxido de Cálcio em 7 dias e o melhor resultado do Callen PMCC e do Extrato de Aroeira tanto em 7 dias como em 15 dias, pode estar relacionado ao veículo utilizado no preparo da medicação e na forma de inserção da medicação intracanal. Este comportamento do Calen PMCC e do extrato de Aroeira pode ser explicado pelo melhor escoamento proporcionado pelos veículos viscosos, resultando em um melhor contato entre as paredes dentinárias e a pasta, gerando um melhor preenchimento do canal e, conseqüentemente maior liberação iônica (CAMARGO, 2002). Ainda com relação ao Calen PMCC, a formação de um composto chamado paraclorofenolato de cálcio, um sal formado pela combinação dos componentes da pasta, torna sua ação mais prolongada e mais estável (ANTHONNY, GORDON, DEL RIO, 1982; LEONARDO et al, 1993) , o que explicaria os melhores resultados neste estudo do grupo do Calen PCMM com 15 dias de medicação intracanal.

Entretanto, segundo Lana et al (2009) as pastas de hidróxido de cálcio com ou sem PMCC não mostraram diferenças em zonas de inibição do crescimento bacteriano pelo método de difusão de Agar, demonstrando que os resultados

divergentes podem ser obtidas por diferentes técnicas utilizadas *in vitro* para avaliar a atividade antimicrobiana entre pastas de hidróxido de cálcio. Os mesmos autores sugerem que, o Hidróxido de Cálcio, quando associado ao PMCC deve ser mantido no interior dos canais radiculares no mínimo 14 dias. Neste estudo foi realizada avaliação estatísticas com 7 e 15 dias de medicações.

A medicação à base de hidróxido de cálcio PA pode ser levada ao interior do canal radicular por meio de limas endodônticas, de brocas espirais Lentullo, compactador de McSpadden, cones de guta-percha e porta-amálgama. A conicidade e o grau de curvatura do canal podem comprometer o preenchimento com medicação intracanal em todo comprimento do canal radicular. No presente estudo, a inserção do Hidróxido de Cálcio PA foi realizada através da penúltima lima utilizada no preparo químico-mecânico; para o Calen PMCC foi uma seringa específica para o Calen, favorecendo o preenchimento em todo o canal radicular; e para o Extrato de Aroeira a 50% foi através de uma seringa de 1mL.

O veículo utilizado no preparo do Hidróxido de Cálcio PA foi uma solução anestésica, que é um veículo inerte aquoso que caracteriza-se pela rápida dissociação iônica e pela rápida difusão desses íons, entretanto perde mais rapidamente este efeito. O veículo utilizado tanto no extrato de Aroeira a 50%, quanto no Calen PMCC foi o propilenoglicol, um veículo inerte viscoso caracterizado por apresentar uma dissociação mais lenta dos íons, apresentando um efeito bactericida mais duradouro. O Calen PMCC ainda apresenta um veículo biologicamente ativo, que é Paramonoclorofenol canforado (PMCC), que confere um efeito antimicrobiano adicional ao hidróxido de cálcio presente na pasta.

A medicação intracanal pode ser coadjuvante na terapia endodôntica e o objetivo do presente estudo *in vitro* e *ex vivo* foi avaliar a efeito antimicrobiano do extrato da *Schinus terebenthifolius* Raddi (Aroeira) contra *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Em todos os testes realizados, o extrato testado mostrou-se tão eficiente quanto o produto habitualmente utilizado, pasta à base de hidróxido de cálcio e o Calen PMCC, superando-a em algumas comparações. Esse mesmo resultado foi comprovado por Guerra et al. (2000), Boros (2007) e Costa et al. (2010).

As folhas da *Schinus terebenthifolius* Raddi (Aroeira) tem sido amplamente utilizada pela medicina popular e aos poucos sendo aceita e introduzidas pelos profissionais de saúde. Nesta pesquisa, utilizou-se o extrato

hidroglicólico da Aroeira, devido ao veículo glicólico (propilenoglicol) ser o mesmo utilizado na medicação Calen PMCC. Como resultado, mostrou que houve uma redução significativa do microrganismo tanto em 7 como em 15 dias, quando usado o extrato hidroglicólico da Aroeira.

Apesar de ter suas propriedades antiinflamatórias, antimicrobianas e cicatrizantes bem documentadas e utilizadas na medicina popular (BOOKER et al., 2012; ROCHA et al. 2013; SANTOS et al., 2013; ALMEIDA et al., 2014;), existem poucos trabalhos com *Schinus terebenthifolius* Raddi na Odontologia, especialmente na Endodontia. Os resultados obtidos neste estudo antecipam a possibilidade do profissional possuir alternativa viável, favorável às suas necessidades clínicas, uma vez que microrganismos presentes nas infecções endodônticas persistentes tem uma certa resistência as medicações utilizadas na clínica odontológica com o hidróxido de cálcio.

Os diversos estudos anteriores com extrato de Aroeira (BOROS, 2007; COSTA et al., 2010; TONIAL, 2010; MARTORELLI et al., 2011; BOOKER et al., 2012; CARVALHO et al., 2013; ESTEVÃO et al., 2013; ROCHA et al. 2013; SANTOS et al., 2013; ALMEIDA et al., 2014) corroborados pelos resultados verificados com a medicação experimental nesta pesquisa, apontam para a biocompatibilidade e a viabilidade de seu uso clínico na prática endodôntica. Estudos *in vivo*, em humanos, devem ser agora desenvolvidos.

Através dos resultados positivos dessa pesquisa e novos estudos *in vivo*, o uso do extrato da *Schinus terebenthifolius* Raddi (Aroeira) poderá ser um aliado no tratamento endodôntico de infecções persistentes. Por ser uma planta já listada na ANVISA como um fitoterápico, o seu uso no SUS poderá ser bastante difundido e utilizado, quando houver necessidade.

Apesar do potencial antimicrobiano do extrato de Aroeira, novos estudos sobre a comprovação científica da eficácia dessa planta para problemas bucais são necessários. Os resultados encontrados em teste *in vitro* e *ex vivo* podem não corresponder aos comportamentos reais dos produtos testados *in vivo*, uma vez que os mesmos não estão expostos às mesmas condições da cavidade oral.

7 CONCLUSÃO

As condições experimentais permitiram concluir que a medicação intracanal na forma de extrato bruto de Aroeira a 50% foi eficaz como medicação intracanal frente ao *Enterococcus faecalis*, podendo ser considerada uma alternativa viável para uso endodôntico.

De acordo com a análise microbiológica após 7 dias de tratamento com as medicações utilizadas na Endodontia e com o Extrato de Aroeira a 50% pode-se concluir que o grupo com PA (Hidróxido de Cálcio em pó e anestésico) apresentou o pior resultado entre os grupos e não houve diferença estatística entre o grupo EA (Extrato de Aroeira) e CA (Calen), apesar do grupo EA demonstrar uma maior redução relativa de microrganismos.

Quando esta mesma avaliação foi realizada após 15 dias de tratamento, conclui-se que não houve diferença estatística significativa entre os grupos testados, demonstrando assim que todas as medicações foram eficazes.

REFERÊNCIAS

ANDOLFATTO, C. **Avaliação histológica e microbiológica de curativos de Demora à base de hidróxido de cálcio usados em endodontia.** Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

ALAM, T; NAKAZAWA, F; NAKAJO, K; UEMTSU, H; HOSHINO, E. Susceptibility of *Enterococcus faecalis* to a Combination of Antibacterial Drugs (3Mix) *in vitro*. **J Oral Biosci.**, 47(1): 315-320; 2005.

ALMEIDA, MZ. et al.. Species with medicinal and mystical-religious uses in São Francisco do Conde, Bahia, Brazil: a contribution to the selection of species for introduction into the local Unified Health System. **Rev Bras Farmacogn** 24, 171-184; 2014.

ALVES, LF. Produção de Fitoterápicos no Brasil: História, Problemas e Perspectivas. **Rev. Virtual Quim.**, 5 (3), 450-513; 2013.

ANVISA. **Resolução RDC nº 48, de 16 de março de 2004 – Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.** Diário Oficial, Brasília, Março 18, 2004.

_____. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**, 1ª Edição, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 60, de 10 de novembro de 2011. Diário Oficial, Brasília, November 11, 2011.

ANTHONNY, DR; GORDON, TM; DEL RIO, CE. The Effect of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. **Oral Surg.**, v. 54, n.5, p.560-565, Nov, 1982

ATTIA, DA et al.. Antimicrobial effect of different intracanal medications on various microorganisms. **Tanta Dental Journal** 12: 41-47; 2015.

BAHCALL, J K; BARSS JT. Understanding and evaluating the endodontic file. **Gen Dent** , 48(6):690–692, 2000.

BALLAL, V et al.. Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. **Australian Dental Journal**, 52:(2):118-121; 2007.

BONTEN, MJ; WILLEMS, R; WEINSTEIN, RA. Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from. **The Lancet Infectious Diseases**, 1:314–25; 2001.

BOOKER, A et al.. Value chains of herbal medicines—Research needs and key challenges in the context of ethnopharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, 140: 624– 633, 2012.

BOROS, LF. **Ação Antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de folhas da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira)**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. Ministério da Saúde. RENISUS - fev/2009

_____. **Farmacopéia Brasileira**, volume 2 . Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 546p., 1v/il.

_____. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulação Nacional de Farmacopéia Brasileira**, 2ª Ed., Brasília, 2011.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica** Brasília : Ministério da Saúde, 2012

_____. Ministério da Saúde. **Monografia da Espécie *Schinus Terebinthifolius* Raddi (Aroeira-Da-Praia)**. Brasília : Ministério da Saúde, 2014.

BUFAINO, EM. Phytotherapy in Brazil: recovering the concepts. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.** 23(1): Jan./Feb. 2013.

BYSTROM, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. **Scand J Dent res**, 89: 321-8; 1981.

CÂMARA, AC et al.. Soluções Irrigadoras Utilizadas para o Preparo Biomecânico de Canais Radiculares. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**, João Pessoa, 10(1):127-133, jan./abr. 2010.

CAMARGO, CHR. **Avaliação do pH e liberação do cálcio, na utilização intracanal de pastas à base de Hidróxido de Cálcio, em função do tempo e de diferentes veículos. (Estudo realizado em dentes humanos e bovinos)**. Tese de Doutorado - Faculdade de Odontologia de Bauru, Bauru, 2002.

CARMONA, F; PEREIRA, AMS. Herbal medicines: old and new concepts. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.** 23(2): Mar./Apr. 2013.

CARVALHO, ACB et al.. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Braz J. Pharmacogn.** 18(2): Abr./Jun. 2008.

CARVALHO, MG; MELO, AGN; ARAGÃO, CFS; RAFFIN, FN; MOURA, TFAL. *Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.15, n.1, p.158-169, 2013.

CERQUEIRA, LG et al.. Técnicas de Instrumentação Manual e Rotatória: Comparação da modelagem dos canais radiculares. **UFES Rev. Odontol.**, Vitória, v.9, n.1, p.13-19, jan./abr. 2007

CHAI WL et al. Evaluation of antimicrobial efficacy of antibiotics and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* biofilm in dentine. **Sain Malays.**, 42:73–80; 2013.

CONBRAFITO. **O que é fitoterapia?** Produzido em 29 July, 2015. Disponível em: <<http://www.fitoterapia.com.br/portal>>. Acesso em: 10 de janeiro de 2015.

COSTA, E. M. M. B. et al.. Estudo in vitro da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. **Bras Patol Med Lab.**, v. 46, n. 3, p. 175-180, junho 2010.

DOTTO, SR; TRAVASSO, RMC; FERREIRA, R *et al.*. Avaliação da Ação Antimicrobiana de Diferentes Medicações Usadas em Endodontia. **Rev Odonto Ciênc**, 21(53): 266-269; 2006.

DUARTE, MR et al.. 2006 - Diagnose morfoanatômica de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae). **Revista Visão Acadêmica**, v.7, n. 2, p. 5-13, 2006.

ENDO, MS. **Análise morfológica do forame apical após o preparo endodôntico com patência e ampliação foraminal, comparando instrumentos manuais e rotatórios.** Monografia (Especialização) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. Piracicaba, 2009.

ESTEVIÃO, LRM *et al.*. Effects of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) oil on cutaneous wound healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira** - Vol. 28 (3) 2013.

ESTRELA, C; PIMENTA, FC; ITO, IY; BAMMANN, LL. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. **J Endod**, v.24, n.1, p.15-17, 1998.

ESTRELA, C *et al.*. Antibacterial Efficacy of Intracanal Medicaments on Bacterial Biofilm: A Critical Review. **J Appl Oral Sci.**, 17(1): 1-7; 2009.

EVANS, M; DAVIES, JK; SUNDQVIST, G; FIDGOR, D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **IEJ.**, 35: 221-8; 2002.

FERREIRA, RB. **Avaliação in vitro da limpeza de canais radiculares submetidos à irrigação final com diferentes soluções irrigantes energizadas pelo ultra-som.** Dissertação de Mestrado em Odontologia, Universidade de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, 2005.

FERREIRA, CXM. **Ação Antimicrobiana De Diferentes Medicamentos Intracanaís Contra Isolados Endodônticos De *Enterococcus Faecalis*.** Dissertação de Mestrado da Faculdade de Odontologia da Universidade Estácio de Sá. Rio de Janeiro, 2010.

FISHER, K; PHILLIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. **Microbiology**, 155:1749–57; 2009.

FLANDERS, DH. Endodontic patency. How to get it. How to keep it. Why it is so important. **N Y State Dent J.**, 68(6): 30-2; 2002.

FREIRES, IA. et al.. Atividades antibacteriana e antiaderente in vitro de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. **Odontol. Clín.-Cient.**, Recife, 9 (2) 139-143, abr./jun., 2010.

GEORGOPOULOU, M; KONTAKIOTIS, E; NAKOU, M. In vitro evaluation of the effectiveness of calcium hydroxide and paramonochlorophenol on anaerobic bacteria from the root canal. **Endod Dent Traumatol.** 1993; 9: 249-53.

GILBERT, B; FAVORETO, R. *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Fitos**, Vol.6 - nº01 - dezembro 2011.

GONÇALVES, NMT, et al.. Políticas de Saúde para a Fitoterapia no Brasil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales.** 18(4):632-637, 2013.

GUERRA, MJM *et al.*. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80 % de *Schinus terebinthifolius raddi* (copal). **Rev Cubana Plant Med**, 5(1):23-5; 2005.
HARTMANN, MSM. **Análise comparativa in vitro, do preparo do canal Radicular realizado por diferentes técnicas, através de tomografia computadorizada.** Dissertação de Mestrado da Universidade Luterana do Brasil, Canoas 2006.

GUERREIRO-TANOMARU, JM; FRANCO, ND; AGUIAR, APS; ESPIR, CG; TANOMARU F^o, M. Atividade antimicrobiana residual de pastas à base de hidróxido de cálcio e associações como medicação intracanal. **Full Dent. Sci.** 2014; 6(21):132-137.

HERINGER, AP. **Aspectos químicos, ecológicos e farmacológicos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.** Dissertação (mestrado) – UFRJ , 2009.

HULSMANN, M et al.. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. **Endodontic Topics**, 2005, 10, 30–76.

JETT, BD; HUYNCKE, MM; GILMORE, MS. Virulence of enterococci. **Clin Microbiol Rev.**, 7:462-78; 1994.

KAYAOGLU, G; ORSTAVIK, D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. **Crit Rev Oral Biol Med.**, 15:308-20; 2004.

LANA, PEP *et al.*. Antimicrobial Activity of Calcium Hydroxide Pastes on *Enterococcus faecalis* Cultivated in Root Canal Systems. **Braz Dent J**, 20(1) 2009.

LEONARDO, MR *et al.* Penetrabilidade do curativo de demora. **RGO.**, v.41, n.4, p.199-203, jul/ago., 1993.

LEONARDO, MR *et al.*. Avaliação *in Vitro* da Atividade Antimicrobiana de Pastas Utilizadas em Endodontia. **Revista APCD.**, 53(5): 367-370; 1999.

LEONARDO, MR. **Endodontia: tratamento de canais radiculares. Princípios técnicos e biológicos.** 1a ed. São Paulo: Artes Médicas; 2005.

LEONARDO, MR; HERNANDEZ, MEFT; SILVA, LAB; TANOMARU-FILHO, M. Effect of a calcium hydroxide-based root canal dressing on periapical repair in dogs: a histological study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2006; 102: 680-5.

LINS, RX *et al.*. Antimicrobial resistance and virulence traits of *Enterococcus faecalis* from primary endodontic infections. **Journal of Dentistry.** 41:779-786, 2013.

LORENZI, H; MATOS, FJA. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

MAEKAWA, LE. **Avaliação dos extratos de própolis e de Gengibre como medicação intracanal sobre Microrganismos e endotoxinas em canais Radiculares.** Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) – Faculdade de Odontologia de São Jose dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista, 2010.

MARTINHO, FC, *et al.*. Efeito antimicrobiano de diferentes substâncias químicas associadas ao preparo mecânico e da medicação intracanal em dentes de cães portadores de lesões periapicais induzidas. **Dental Press Endod.**, apr-june;1(1):28-36; 2011.

MARTORELLI, SBF, *et al.*. Efeito antiinflamatório e cicatrizante do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) a 30% em oralbase - estudo "In vivo". **Int. J Dent, Recife**, 10(2): 80-90, abr./jun., 2011.

MATOS NETO, M. **Avaliação *in vitro* da eficácia de técnicas Endodônticas de preparo mecânico na redução de *enterococcus faecalis*.** Dissertação de Mestrado. Taubaté – SP, 2007.

MIYASATO, LESF *et al.*. Evaluation of anti-inflammatory, immunomodulatory, chemopreventive and wound healing potentials from *Schinus terebinthifolius* methanolic extract. **Rev Bras Farmacogn** 24: 565-575; 2014.

MOLANDER, A; REIT, C; DAHLEN, G; KVIST, T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **International Endodontic Journal.**, 31: 1-7; 1998.

MONTAGNER, F; CINTRA, LTA; ALMEIDA, JFA; FERRAZ, CCR; ZAIA, AA; SOUZA-FILHO, FJ; GOMES, BPFA. Estudo *in vitro* da manutenção da ação antimicrobiana de medicações intracanal frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. **Braz Oral Res.** 2007, 21: 234-4.

MOQBEL, NM *et al.*. Effect of intracanal medicament gel materials separate and in

combination in the elimination of *Enterococcus faecalis* biofilm. **Tanta Dental Journal**,11, 199- 205, 2014.

MOREIRA, DL et al.. Traditional use and safety of herbal medicines. **Rev Bras Farmacogn** 24: 248-257; 2014.

MORI,GG; FERREIRA, FC; BATISTA, FRS; GODOY, AMS; NUNES, DC. Evaluation of the diffusion capacity of calcium hydroxide pastes through the dentinal tubules. **Braz Oral Res** 2009;23(2):113-8

MURRAY, PR et al.. **Microbiologia Médica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

NACIF, MCAM; ALVES, FRF. *Enterococcus faecalis* na Endodontia: um desafio ao sucesso. **Rev. bras. odontol.**, Rio de Janeiro, v. 67, n. 2, p.209-14, jul./dez. 2010.

NUNES, MR. **Diferentes Parâmetros da Terapia Fotodinâmica na redução de *Enterococcus faecalis* em Canais Radiculares**. Dissertação de Mestrado - Universidade de Taubaté, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2008.

OLIVEIRA, EPM *et al.*. Avaliação da ação antimicrobiana de quatro formulações a base de hidróxido de cálcio utilizadas como medicação intracanal. **RFO**, v. 15, n. 1, p. 35-39, janeiro/abril 2010.

OLIVEIRA, MAC. **Plantas medicinais utilizadas para problemas bucais: Estudo etnobotânico em diferentes biomas da paraíba**. Trabalho de Conclusão de Curso da Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2010.

PARADELLA, TC et al.. *Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas. **Revista de Odontologia da UNESP.**, 36(2): 163-68; 2007.

PEDROSA, RC et al.. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de Fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Quim. Nova**, Vol. 24, No. 1, 147-152, 2001.

PETER, LB *et al.*. Effects of Instrumentation, Irrigation and Dressing with Calcium Hydroxide on Infection in Pulpless Teeth with Periapical Bone Lesions. **Int Endod J.**, 35: 13-21; 2002.

PRETEL, H et al.. Comparação entre soluções irrigadoras na endodontia: clorexidina x hipoclorito de sódio. **RGO - Rev Gaúcha Odontol.**, Porto Alegre, v.59, suplemento 0, p. 127-132, jan./jun., 2011.

RESENDE, MA et al.. Antifungal Properties Of Plants Used In Brazilian Traditional Medicine Against Clinically Relevant Fungal Pathogens. **Brazilian Journal of Microbiology**, 38:632-637; 2007.

RIBAS, MO et al.. Efeito Da *Schinus Terebinthifolius* Raddi Sobre O Processo De Reparo Tecidual Das Lesões Ulceradas Induzidas Na Mucosa Bucal Do Rato. **Revista Odonto Ciência** – Fac. Odonto/PUCRS, v. 21, n. 53, jul./set. 2006.

ROCHA, EALSS, et al.. Atividade Antimicrobiana de Extratos Hidroalcoólicos de Plantas Medicinais do Nordeste Brasileiro. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**, João Pessoa, 13(3):233-38, jul./set., 2013.

RUBIK, A. **Medicação Intracanal em Dentes com Necrose Pulpar após preparo químico-mecânico**. Monografia apresentada como requisito parcial de obtenção de título de Especialização de Endodontia - Passo Fundo, 2007.

RUDDLE, CJ. Current concepts for preparing The root canal system. **Dentistry Today**, February 2001

SALVI JR, A. “**Schinus terebinthifolius raddi: estudo anatômico e histoquímico das folhas e investigação do potencial farmacêutico do extrato etanólico e suas frações**”. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Fármacos e Medicamentos, Araraquara, 2009.

SANTOS, EB *et al.*. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 19(1B): 321-324, Jan./Mar. 2009.

SANTOS, OJ et al.. Efeito De Schinus Terebinthifolius Raddi (Aroeira) E Carapa Guianensis Aublet (Andiroba) Na Cicatrização De Gastrorrafias. **ABCD Arq Bras Cir Dig**, (2):84-91; 2013.

SANTOS, RL et al.. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.4, p.486-491, 2011.

SATHORN, C *et al.*. Antibacterial Efficacy of Calcium Hydroxide Intracanal Dressing: a systematic review and meta-analysis. **International Endodontic Journal**, 40, 2–10, 2007.

SATO, I *et al.*. Sterilization of Infected Root Canal Dentine by Topical Application of a Mixture of Ciprofloxacin, Metronidazole and Minocycline in situ. **Int Endod J.**, 29(2): 118-124; 1996.

SCHILDER, H. Cleaning and shaping the root canal. **Dental Clinics North America**, Philadelphia, v. 18, n. 2, p.269-296, Apr 1974.

SEDGLEY C. Root canal irrigation—a historical perspective. **J Hist Dent**, 52(2):61–65; 2004.

SILVA, BM et al.. Ação do hidróxido de cálcio frente ao *enterococcus faecalis* nos casos de periodontite apical secundária. **Odonto**, 18(35):95-105; 2010.

SILVEIRA, PF et al.. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 18(4): 618-626, Out./Dez. 2008.

SILVELLO, CLC. **O uso de plantas medicinais e de fitoterápicos no SUS: uma revisão bibliográfica.** Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010.

SIQUEIRA, JF. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. **International Endodontic Journal**, 34(1): 1–10, 2001

_____. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 94: 281-93, 2002

SIQUEIRA JR, JF; UZEDA, M. Disinfection by Calcium Hydroxide Paste of Dentinal Tubules Infected with two Obligate and one Facultative Anaerobic Bacteria. **J Endodon.**, 22: 674-676; 1996.

SIQUEIRA JR, JF; ROÇAS, IN. Polymerase chain reaction–based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. **Oral surgery oral medicine oral pathology**, v.97, n.1, January 2004.

SIQUEIRA JR, JF; ARAÚJO, MC; GARCIA, PF; FRAGA, RC; DANTAS, CJ. Histological evaluation of the effectiveness of five instrumentation techniques for cleaning the apical third of root canals. **J. Endod.**, v. 23, n. 8, p. 499-502, 1997.

SOARES, JA; CÉSAR, CAS. Avaliação clínica e radiográfica do tratamento endodôntico em sessão única de dentes com lesões periapicais crônicas. **Pesqui Odontol Bras**, v. 15, n. 2, p. 138-144, abr./jun. 2001.

SOARES, JA et al.. Effect of biomechanical preparation and Calcium hydroxide pastes on the antiseptics Of root canal systems in dogs. **J Appl Oral Sci**, 13(1): 93-100; 2005.

SOUZA, ADS; MACHADO, MEL; MASSARO, H. Substâncias químicas auxiliares utilizadas em endodontia -irrigação e aspiração. In:Machado MEL. **Endodontia: da biologia à técnica.** São Paulo:Santos, p. 253-67; 2007.

SOUZA, LFL. **Atividade antimicrobiana de extratos de Aroeira (Schinus Terebinthifolius Raddi) frente a bacterias relacionadas à mastite bovina.** Monografia de Graduação. Brasília, 2011.

SPONCHIADO JÚNIOR, EC. **Atividade antibacteriana contra o *Enterococcus faecalis* de uma medicação intracanal contendo ativos fitoterápicos de *Pothomorphe umbellata*.** Tese de Doutorado em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas. Manaus, 2006.

STUART, CH et al.. Enterococcus faecalis: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. **JOE** — Volume 32, Number 2, February 2006.

SUNDE, PT *et al.*. Microbiota of Periapical Lesions Refractory to Endodontic Therapy. **Journal of Endodontics**, Vol. 28, No. 4, April 2002.

SUNDQVIST, G; FIGDOR, D; PERSSON, S; SJOGREN, U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.**, 85: 86-93; 1998.

SYDNEY, GB *et al.*. O emprego de cremes como auxiliares no preparo do canal radicular: Estágio atual. **RSBO**, v. 3, n. 2, 2006.

SYDNEY, GB *et al.*. Acesso Radicular. **Robrac**, 17 (43) 2008.

TONIAL, F. **Atividade Antimicrobiana De Endófitos E De Extratos Foliare De *Schinus Terebenthifolius* Raddi (Aroeira)**. Dissertação de Mestrado. Curitiba, 2010.

VIANNA, ME. **Microbiologia e tratamento das infecções endodônticas**. Tese de Doutorado da Universidade Estadual de Campinas. Piracicaba, 2006.

ZAPPELINI, KV. **Algumas Soluções Químicas na Irrigação de Canais Radiculares**. Tese da Especialização em Endodontia ICS – FUNORTE/SOEBRÁS NÚCLEO FLORIANÓPOLIS. Florianópolis, 2011.

WALTIMO, TMT *et al.*. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. **Int Endod J.**, 30(2): 96-101; 2005.

WECKWERTH, PH *et al.*. Determinação *in vitro* do efeito antimicrobiano direto do hidróxido de cálcio associado a diferentes substâncias frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. **Dental Press Endod.**, apr-june;1(1):46-51, 2011.

WECKWERTH, PH *et al.*. In Vitro Alkaline pH Resistance of *Enterococcus faecalis*. **Brazilian Dental Journal**. 24(5): 474-476, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The world medicines situation 2011: traditional medicines: global situation, issues and challenges**. Geneva: WHO, 2011. 12p.

APÊNDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS - CEP/UFBA TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/12)

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “UMA NOVA ABORDAGEM PARA O TRATAMENTO DE INFECÇÕES ENDODÔNTICAS PERSISTENTES COM O USO DE UM GEL À BASE DE EXTRATO DE AROEIRA ASSOCIADO AO LED”, coordenada pelo pesquisador responsável Aparecida M^a Marques e conduzida por Maiana M^a Rios Siqueira Mattos, aluno/pesquisador do curso Mestrado em Biotecnologia da Universidade Federal da Bahia. Esta pesquisa se justifica pelos benefícios futuros de uma nova medicação intranacal a base de extrato de aroeira.

Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: doação livre e espontânea dos dentes(s) extraídos por indicação terapêutica prévia, seguindo todos os protocolos de cirurgia dental, com anestesia e sutura no final do procedimento. Os dentes serão armazenados de forma adequada. Os riscos envolvidos na pesquisa são mínimos, como sangramento na região extraída, mal estar e dor. A pesquisa contribuirá para o desenvolvimento de novas medicações fitoterápicas de uso odontológico e com efeitos terapêuticos comprovados, visando a inserção desse medicamento no Sistema Único de Saúde (SUS) para que possa ser utilizada na área de saúde como uma alternativa menos custosa para determinados tratamentos.

Para participar deste estudo o Sr (a) não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, o Sr.(a) tem assegurado o direito a indenização. O Sr. (a) terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o Sr. (a) é atendido (a) pelo pesquisador, que tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão.

O (A) Sr (a) não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, na Universidade Federal da Bahia e a outra será fornecida ao Sr. (a). Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução N^o 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

A qualquer momento Sr. (a) poderá solicitar novas informações e modificar sua decisão de participar se assim o desejar. Se o (a) senhor (a) se sente devidamente informado (a) e concorda em participar da pesquisa, assine abaixo esse termo em duas vias.

Salvador, _____ de _____ de 2015

Assinatura do participante (Sujeito da Pesquisa)

Assinatura do Pesquisador Responsável (nome por extenso)

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

Nome do Pesquisador Responsável: Aparecida M^a Cordeiro Marques

Tel para contato: (71) 92971787

E-mail: cidamarques77@hotmail.com

Nome do Pesquisador Assistente: Maiana M^a Siqueira Mattos

Tel para contato: (71) 91336175

E-mail: maianarios@yahoo.com.br

Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Saúde Coletiva da Universidade Federal da Bahia: (71) 3283.7441

E-mail: cepisc@ufba.br

Endereço: Rua Basílio da Gama, s/n – 2º andar – 40110-040 - Salvador – Bahia

ANEXOS

ANEXO 1

APROVAÇÃO DO COMITE DE ÉTICA

ANEXO 2
CARTA DE ANUENCIA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UFBA