TRABALHO COMPLETO
FULL PAPER
XXVIII SEPE
Simpósio de Ensino, Pesquisa e Extensão
Teaching, Research and Extension Symposium
ISSN: 2316-9745
24 A 26 DE SETEMBRO DE 2024
SEPTEMBER 24th to 26th, 2024
UFN
https://doi.org/10.48195/sepe2024.28362

# USO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO FOLHA COMO MEDICAÇÃO INTRACANAL: RESULTADOS PRELIMINARES

**Sidnei Flores de Pellegrin[1]; Carolina Ritta Paul[1]; Pedro Henrique Fortes Guerim[1]; Patrícia Kolling Marquezan[2]; Mariana De Carlo Bello[3]; Carina Michelon[2]**

## RESUMO

Avaliou-se a eficácia do óleo essencial de cravo folha (*Eugenia caryophyllus*) como medicação intracanal em canais infectados por *Enterococcus faecalis*. Após o preparo químico-mecânico, cinquenta incisivos bovinos foram contaminadas com *E. faecalis* e submetidos a aplicação da medicação intracanal por meio da colocação de uma porção de algodão estéril umedecida com tricresol formalina ou óleo essencial pelos tempos de 24, 48, 72 horas ou 7 dias. Para a realização da contagem dos microorganismos viáveis foi utilizada uma ponta de papel absorvente e o cultivo se deu em meio BHI (24 horas a 37ºC). Após, realizou-se à contagem do número de unidades formadoras de colônias nas placas de cultivo. O óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* foi eficaz em 7 dias. Já o tricresol formalina diminuiu o número de *E. faecalis* em todos os tempos testados. Portanto, o óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* torna-se candidato a substituto do tricresol formalina como medicação intracanal.

**Palavras-chave**: *Eugenia caryophyllus; Tricresol formalina; Enterococcus faecalis.*

## ABSTRACT

The efficacy of clove leaf essential oil (*Eugenia caryophyllus*) as an intracanal medication in canals infected with *Enterococcus faecalis* was evaluated. After chemical-mechanical preparation, fifty bovine incisors were contaminated with E. faecalis and submitted to application of intracanal medication by placing a portion of sterile cotton moistened with tricresol formalin or essential oil for 24, 48, 72 hours or 7 days. To perform the counting of viable microorganisms, an absorbent paper tip was used and the cultivation took place in BHI medium (24 hours at 37ºC). Afterwards, the number of colony forming units in the culture plates was counted. *Eugenia caryophyllus* essential oil was effective in 7 days. Tricresol formalin, on the other hand, reduced the number of *E. faecalis* at all times tested. Therefore, *Eugenia caryophyllus* essential oil becomes a candidate to replace tricresol formalin as an intracanal medication.

[1] Sidnei Flores de Pellegrin - Universidade Federal de Santa Maria - sidpellegrin@gmail.com;
[1] Carolina Rita Paul - Universidade Federal de Santa Maria – paul.carolina@acad.ufsm.br
[1] Pedro Henrique Fortes Guerim -Universidade Federal de Santa Maria - guerim.pedro@acad.ufsm.br
[2] Patrícia Kolling Marquezan - Universidade Federal de Santa Maria - patimarquezan@hotmail.com;
[2] Carina Michelon - Universidade Federal de Santa Maria – drcarina.endo@gmail.com
[3] Mariana De Carlo Bello - Universidade Franciscana – maridcbello@yahoo.com.br

**Keywords:** *Eugenia caryophyllus; Tricresol formalina; Enterococcus faecalis.*

**Eixo Temático:** Atenção Integral e Promoção à Saúde (AIPS).

## 1. INTRODUÇÃO

Na endodontia, o uso de medicamentos intracanais tem por objetivo eliminar bactérias remanescentes após a instrumentação do canal radicular (Iqbal, 2016), reduzir a inflamação dos tecidos periapicais e remanescentes pulpares, neutralizar os debris teciduais e atuar como barreira físico-química contra uma nova infecção (Kawashima et al., 2009). As medicações intracanais são usadas de acordo com o seu objetivo e também levando em consideração a etapa do tratamento endodôntico. Nos casos do preparo químico-mecânico estar completo, o uso de formulações à base de hidróxido de cálcio já está bem estabelecida na literatura, diferentemente daquelas situações onde o preparo não foi finalizado (Holland et al., 2003; Leonardo et al., 2002).

O tricresol formalina é um potente agente antibacteriano que atua como um curativo de demora na câmara pulpar de dentes com necrose pulpar, proporcionando a desinfecção e reparação das lesões periapicais (Bravo et al., 2020). Esse medicamento foi amplamente utilizado na endodontia por muitos anos. Entretanto, recentemente, o uso desse derivado de formaldeído tem sido desencorajado devido ao seu potencial citotóxico, genotóxico e carcinogênico devido a liberação de substâncias a partir da sua vaporização (Lewis et al., 2010).

Nesta perspectiva, busca-se novas substâncias antibacterianas que possam otimizar a desinfecção do sistema de canais radiculares infectado com uma menor toxicidade (Marinković et al., 2022). Dentre elas destacam-se os produtos naturais, especialmente os óleos essenciais. Alguns deles, tais como o tomilho (*Origanum dubium Boiss.*, ou *O. dubium*) e a hortelã (*Mentha spicata L.,* ou *M. spicata*) apresentam atividade antimicrobiana conhecida frente a bactérias Gram-positivas como a *Enterococcus faecalis* e Gram-negativas, de mesmo modo frente a espécies fúngicas como *Candida albicans* (Wińska et al., 2019; Cosan et al., 2022).

Outro óleo essencial vastamente estudado é oriundo do cravo folha (*Eugenia caryophyllus*) que é composto por fenilpropanóides como carvacrol, timol, eugenol e

cinamaldeído (Chaieb et al., 2007). Na odontologia esse óleo é utilizado como anti-séptico e analgésico (Halder et al., 2012), além de sua atividade biológica que vem sendo investigada em diversos microrganismos e parasitas (Shahina et al., 2022). Ademais, o óleo essencial do cravo folha quando interposto a nanopartículas lipídicas sólidas apresenta-se eficaz contra diferentes patógenos humanos, como, frente a *Salmonella typhi, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* (Bazzaz et al., 2018).

Nesse contexto, o objeto deste estudo foi de avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial do cravo folha (*Eugenia caryophyllus*) frente ao *E. faecalis*.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 TESTES DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

#### 2.1.1 Desenho amostral

Este estudo adota um delineamento in vitro para avaliar a eficácia do óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* como medicação intracanal de canais infectados por *E. faecalis* (ATCC 29212). O protocolo da pesquisa recebeu aprovação do Comitê de Ética de Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA nº 9486040123). A determinação do número de dentes por grupo foi fundamentada em estudos prévios que adotaram metodologia semelhante (Menezes et al., 2004). A estimativa do tamanho amostral foi fixada em 5 espécimes por grupo.

#### 2.1.2 Seleção e preparo das amostras

A metodologia adotada baseou-se em Menezes et al. (2004), com ajustes específicos. Utilizou-se cinquenta incisivos bovinos como espécimes para a pesquisa, que passaram por limpeza para remoção de resíduos teciduais. As coroas foram seccionadas próximo à junção esmalte-cemento, resultando em segmentos radiculares de 21mm. O terço cervical foi preparado com brocas Largo nº 3 e nº 4 (Dentsply Maillefer, Suíça). O comprimento de trabalho foi estabelecido inserindo uma lima K nº 20 (Dentsply Maillefer, Suíça) no canal, subtraindo 1 mm. A instrumentação sequencial ampliou as raízes até a lima K nº 80 (Dentsply Maillefer, Suíça), com irrigação de água destilada. Os canais foram irrigados com EDTA a 17% (Biodinâmica, Brasil) por 3 minutos para remover a smear layer. Cada raiz foi fixada verticalmente

com resina acrílica em microtubos plásticos, e as amostras foram esterilizadas em autoclave a 121°C por 30 minutos.

**2.1.3 Controle de esterilização**

Todos os dentes foram esterilizados em autoclave previamente calibrada. Para verificar a eficácia da esterilização, cinco dentes foram aleatoriamente selecionados como controle. Nesse procedimento, os canais foram preenchidos com solução salina estéril a 0,9% (Farmax, Brasil), seguido pela inserção de uma ponta de papel absorvente nos canais radiculares por 30 segundos, agitada circunferencialmente com toques nas paredes. Cada amostra foi transferida para um microtubo plástico contendo 1 mL de solução salina, homogeneizada, e uma alíquota de 10 µL foi cultivada em meio Brain Heart Infusion (BHI). As amostras foram incubadas a 37°C por 24 horas para verificar o crescimento bacteriano. Os resultados indicaram a ausência de crescimento bacteriano nas amostras testadas, evidenciando a eficácia do processo de esterilização.

**2.1.4 Preparação da cultura e inóculo bacteriano**

Neste estudo, a cepa utilizada foi *E. faecalis* (ATCC 51299) da American Type Culture Collection. Uma cultura de 24 horas foi suspensa em solução salina 0,9%, gerando um inóculo de aproximadamente 106 UFC/ml (0,5 na escala de McFarland). Quinze microlitros da suspensão bacteriana foram inoculados nos canais radiculares, complementados com BHI estéril para preenchimento total do canal. A cultura foi mantida a 37ºC por 7 dias, com renovação do meio a cada 48 horas, favorecendo o crescimento bacteriano. Todas as etapas foram realizadas em condições assépticas na capela de fluxo laminar, com controles rigorosos de infecção.

**2.1.5 Aplicação da medicação intracanal**

Após a contaminação, cinco dentes foram utilizados para realizar a quantificação de colônias viáveis previamente a aplicação da medicação intracanal. As raízes restantes foram divididas aleatoriamente em 8 grupos experimentais, com 5 raízes em cada grupo, de acordo com a medicação intracanal utilizada e o tempo de tratamento.

- Grupo 01: Tricresol formalina por 24 horas;
- Grupo 02: Tricresol formalina por 48 horas;
- Grupo 03: Tricresol formalina por 72 horas;

- Grupo 04: Tricresol formalina por 7 dias;
- Grupo 05: Óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* por 24 horas;
- Grupo 06: Óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* por 48 horas;
- Grupo 07: Óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* por 72 horas;
- Grupo 08: Óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* por 7 dias.

Após a divisão em grupos, os exemplares foram submetidos a uma lavagem com solução salina, seguida da secagem do canal com pontas de papel absorvente. Para a administração da medicação intracanal específica de cada grupo, uma porção de algodão estéril foi umedecida na solução e posteriormente aplicada no terço cervical do canal radicular (Valera et al., 2001; Menezes et al., 2004). As aberturas de acesso às raízes foram seladas com cimento provisório. Os exemplares foram então incubados em estufa bacteriológica a 37ºC, de acordo com o tempo de tratamento estabelecido para cada grupo experimental.

**2.1.6 Contagem de microrganismos viáveis**

Para a quantificação de microrganismos viáveis previamente a aplicação das medicações intracanais e após o término do período de tratamento, os canais foram completamente esvaziados e preenchidos com solução salina estéril a 0,9%. Uma ponta de papel absorvente (Tanari, Brasil) foi inserida nos canais radiculares por 30 segundos e agitada de maneira circunferencial, com toques intencionais nas paredes. Em seguida, a ponta de papel foi transferida para um microtubo plástico contendo 1 mL de solução salina a 0,9%. O material foi homogeneizado na solução, realizado uma diluição 1:500, e uma alíquota de 10 µL foi cultivada em meio BHI, sendo incubada por 24 horas a 37ºC. Após o período de incubação, procedeu-se à contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFCs) nas placas de cultivo. Cada placa foi contada duas vezes por um observador previamente calibrado. Um segundo observador realizou o mesmo procedimento para confirmar a contagem das UFCs. Em caso de discrepância na contagem, uma terceira pesquisadora foi consultada para resolver a questão.

**2.1.7 Análise estatística**

Os dados de UFC foram transformados logaritmicamente e analisados quanto à variância estatística usando o teste ANOVA oneway, seguido pelo procedimento post hoc de Tukey, por meio do Software Graph Pad Prism. Versão 8.0.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao realizar a análise dos dados foi demonstrado que o óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* em 7 dias não apresentou uma diferença estatisticamente significante quando comparado a tricresol formalina em 24h, 48h, 72h ou 7 dias (p>0,1). Todos os tempos do tricresol formalina e o óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* em 7 dias demostraram diferença estatisticamente significante quando comparado ao controle. Os resultados da contagem são mostrados na figura 1.

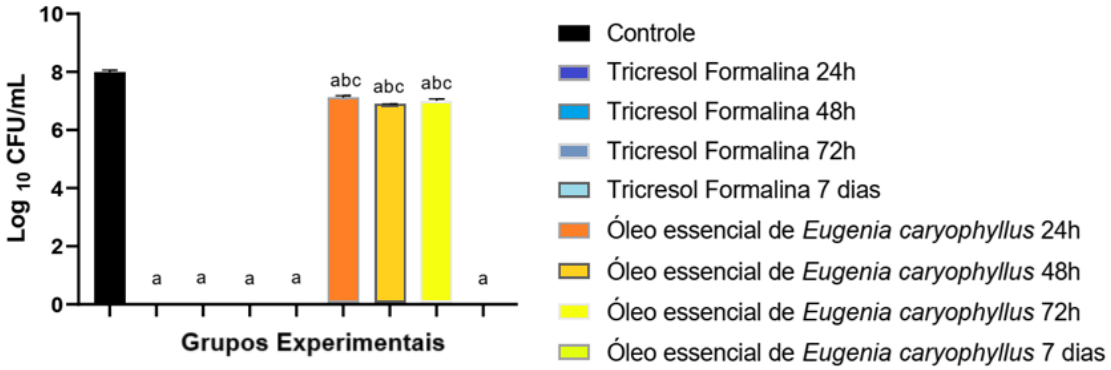



Figura 1 – Contagem de colônias viáveis do biofilme tratado com tricresol formalina e óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* em 24,48,72 horas e 7 dias contra *Enterococcus faecalis*. Dados expressos em média ± desvio padrão do log10 de UFC/mL. Foi feita análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste Tukey. Foi considerado estatisticamente significante valores de $p < 0.001$ quando comparados com o controle (salina).

A *E. faecalis* é uma bactéria anaeróbica gram-positiva originária de bactérias comensais comumente detectadas em casos de infecções endodônticas persistentes ou secundárias (Gaeta et al., 2023). Essas bactérias apresentam resiliência a várias substâncias, incluindo o $Ca(OH)_2$, soluções irrigadoras como NaOCl e condições adversas, incluindo baixo pH, alta salinidade e temperaturas elevadas (Narayanan e Vaishnavi, 2010). Além disso, apresentam capacidade de resistir à fome formando biofilmes em diversas condições ambientais e nutricionais, incluindo ambientes aeróbicos, anaeróbicos, ricos em nutrientes e privados de nutrientes (Jhajharia et al., 2015). Os biofilmes advindos das *E. faecalis* aderem fortemente a áreas de difícil acesso da rede de canais radiculares, incluindo deltas apicais, istmos e canais

laterais. Essa forte adesão leva a uma redução na eficácia antimicrobiana devido à presença de resíduos teciduais, células mortas e dentina (Prada et al., 2019).

Assim, as bactérias *E. faecallis* devem ser consideradas nas estratégias terapêuticas no contexto do tratamento ou retratamento de infecção do canal radicular. Dessa maneira, o presente estudo simula uma situação clínica onde há necrose pulpar dos elementos dentários em que, por algum motivo, o cirurgião dentista não finaliza o preparo químico e mecânico da rede de canais radiculares. Assim, nessa situação necessita-se o uso de agentes químicos antimicrobianos e afim de impedir o crescimento ou erradicar diretamente os microrganismos, neutralizar toxinas, modular o pH da região e proporcionar condições biológicas favoráveis para a regeneração do tecido periapical (Hussein et al., 2022).

Por meio dos testes de atividade antimicrobiana confirmou-se que o tricresol formalina realmente é um potente agente antimicrobiano, mesmo em curtos períodos de tempo (Menezes et al., 2004). Além disso, o óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* apresentou efeito antimicrobiano frente a *E. faecalis*. Contudo, necessitando de maior tempo de ação para demonstrar efeito similar a medicação a base de tricresol formalina. Fato que pode estar associado a barreira química formada a partir da presença de matriz extracelular polimérica produzida pelas células microbianas durante o processo de maturação que dificulta difusão das partículas do óleo de *Eugenia caryophyllus* no interior do biofilme (Jakubovics et al., 2010). Dessa forma, a mobilidade e a biodisponibilidade das partículas ativas do óleo dependem em grande parte, do coeficiente de difusão, o qual está relacionado ao tamanho das partículas e às características físico-químicas, bem como da natureza do biofilme (Peulen et al., 2011).

Os resultados de análise antimicrobiana mostram que o óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* pode ser um substituto do tricresol formalina como medicação intracanal, já que ambos apresentam elevada diminuição no número de *E. faecalis* presentes na rede de canais radiculares. Porém, os tempos de ação são diferentes, evidenciou-se a necessidade de deixar a porção de algodão embebida com o óleo essencial por 7 dias para haver equivalência na morte bacteriana quando comparado ao tricresol formalina. Contudo, essa situação clínica não chega a ser um empecilho

visto que a boa biocompatibilidade e não toxicidade do óleo essencial quando comparado ao tricresol formalina (Jalill, 2018).

Por fim, sugere-se novos estudos com o uso *Eugenia caryophyllus* frente a outras classes de bactérias também presentes em caso de necrose pulpar, como *Streptococcus spp*., *Actinomyces spp.* e *Staphylococcus spp*. (Gomes et al., 2009; Rôças et al., 2008), além de verificar a atividade antimicrobiana por maiores tempos e sob formas diversificadas de preenchimento do canal radicular com o óleo essencial.

## 4. CONCLUSÃO

Os resultados preliminares deste estudo mostram que o óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* é um possível candidato a ser substituto do tricresol formalina como medicação intracanal, devido à sua boa atividade antimicrobiana frente ao *E. faecalis.*

## REFERÊNCIAS

BAZZAZ, B.S.F.; KHAMENEH, B.; NAMAZI, N.; IRANSHAHI, M.; DAVOODI, D.; GOLMOHAMMADZADEH, S. **Solid lipid nanoparticles carrying Eugenia caryophyllata essential oil: the novel nanoparticulate systems with broad-spectrum antimicrobial activity.** Letters in Applied Microbiology. v. 66, n. 6, p. 506-513, 2018.

BRAVO, T. L. V.; VILLALTA, M. J. T. **Revisión bibliográfica del calen/ZO como material obturador en pulpectomías.** RECIAMUC. v. 4, n. 3, p. 375-388, 2020.

CHAIEB, K.; HAJLAOUI, H.; ZMANTAR, T.; KAHLA-NAKBI, A. B.; ROUABHIA, M.; MAHDOUANI, K.; BAKHROUF, A. **The chemical composition and biological activity of clove essential oil, Eugenia caryophyllata (Syzigium aromaticum L. Myrtaceae): a short review.** Phytotherapy Research. v. 21, n. 6, p. 501-6, 2007.

COSAN, G.; OZVEREL, C. S.; HANOGLU, D. Y.; BASER, K. H. C.; TUNCA, Y. M. **Evaluation of Antibacterial and Antifungal Effects of Calcium Hydroxide Mixed with Two Different Essential Oils.** Molecules. v. 27, n.9, 2635, 2022.

GAETA, C.; MARRUGANTI, C.; ALI, I. A. A.; FABBRO, A.; PINZAUTI, D.; SANTORO, F.; NEELAKANTAN, P.; POZZI, G.; GRANDINI, S. **The presence of Enterococcus**

**faecalis in saliva as a risk factor for endodontic infection.** Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 13, 2023.

GOMES, B. P.; MONTAGNER, F.; BERBER, V. B.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C.; DE ALMEIDA, J. F.; SOUZA-FILHO, F. J. **Antimicrobial action of intracanal medicaments on the external root surface.** Journal of Dentistry. v. 37, n.1, p. 76-81, 2009.

HALDER, S.; MEHTA, A.K.; MEDIRATTA, P. K.; SHARMA, K.K. **Acute effect of essential oil of Eugenia caryophyllata on cognition and pain in mice.** Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. v. 385, p. 587–593, 2012.

HOLLAND, R.; OTOBONI FILHO, J.A.; SOUZA, V.; NERY, M.J.; BERNABÉ, P.F.E.; DEZAN, E. **A comparison of one versus two appointment endodontic therapy in dogs' teeth with apical periodontitis.** Journal of Endodontics. v. 29, n. 2, p. 121-124, 2003.

HUSSEIN, H.; KISHEN A. **Local immunomodulatory effects of intracanal medications in apical periodontitis.** Journal of Endodontics. v. 48, p. 430–456, 2022.

IQBAL, A. **The factors responsible for endodontic treatment failure in the permanent dentitions of the patients reported to the college of dentistry, the University of Aljouf, Kingdom of Saudi Arabia.** Journal of Clinical and Diagnostic Research. v. 10, p. ZC146–8, 2016.

JALILL, R. D.A. **Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles with volatile oil of Eugenia caryophyllata for enhanced antimicrobial activities.** IET Nanobiotechnol. v. 12, n. 5, p. 678-687, 2018.

JAKUBOVICS, N. S.; KOLENBRANDER, P. E. **The road to ruin: the formation of disease associated oral biofilms.** Oral Diseases. v. 16, p. 729-739, 2010.

JHAJHARIA, K.; PAROLIA, A.; SHETTY, K. V.; MEHTA, L. K. **Biofilm in endodontics: A review.** Journal of International Society of Preventive and Community. v. 5, p. 1–12, 2015.

KAWASHIMA, N.; WADACHI, R.; SUDA, H.; YENG, T.; PARASHOS, P. **Root canal medicaments.** International Dental Journal. v. 59, n. 1, p. 5-11, 2009.

LEONARDO, M.R.; SILVEIRA, F.F.; DA SILVA, L.A.B.; TANOMARU FILHO, M.; UTRILLA, L.S. **Calcium hydroxide root canal dressing. Histopathological**

**evaluation of periapical repair at different time periods.** Brazilian Dental Journal, v.13, n.1, p.17-22, 2002.

LEWIS, B. **A obsolescência do formocresol.** Journal of the California Dental Association, v. 38, n. 2, p.102-107, 2010.

MARINKOVIĆ, J.; NIKOLIĆ, B.; MARKOVIĆ, T.; PETROVIĆ, B.; PAŠALIĆ, S.; LAL, M.; MARKOVIĆ, D. **Essential oils as adjuvants in endodontic therapy: myth or reality?** Future Microbiology, v. 17, p. 1487-1499, 2022.

MENEZES, M. M.; VALERA, M. C.; JORGE, A. O. C.; KOGA-ITO, C. Y.; CAMARGO, C. H. R.; MANCINI, M. N. G. **In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals.** International Endodontic Journal, v. 37, n. 5, p. 311-9, 2004.

NARAYANAN, L. L.; VAISHNAVI, C. **Endodontic microbiology.** Journal Conservative Dentistry. v. 13, p. 233–239, 2010.

PRADA, I.; MICO-MUNOZ, P.; GINER-LLUESMA, T.; MICO-MARTINEZ, P.; COLLADO-CASTELLANO, N.; MANZANO-SAIZ, A. **Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review.** Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal. v. 24, e364–e372, 2019.

PEULEN, T. O.; WILKINSON, K. J. **Diffusion of nanoparticles in a biofilm.** Environmental Science & Technology Journal. v. 45, p. 3367-3373, 2011.

RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA, J.F.; SANTOS, K. R. **Association of Enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases.** Journal of Endododontics. v. 30, n. 5, p. 315-20, 2004.

SHAHINA, Z.; MOLAEITABARI, A.; SULTANA, T.; DAHMS, T. E. S. **Cinnamon Leaf and Clove Essential Oils Are Potent Inhibitors of Candida albicans Virulence Traits.** Microorganisms. v. 10, n. 10, p.1989, 2022.

VALERA, M. C.; REGO, J. M.; JORGE, A. O. C. **Effect of Sodium Hypochlorite and Five Intracanal Medications on Candida albicans in Root Canals.** Journal of Endododontics. v. 27, n. 1, p. 401-403, 2001.

WIŃSKA, K.; MĄCZKA, W.; ŁYCZKO, J.; GRABARCZYK, M.; CZUBASZEK, A.; SZUMNY, A. **Essential Oils as Antimicrobial Agents—Myth or Real Alternative?** Molecules, v. 24, p. 2130, 2019.