



EGAS MONIZ SCHOOL  
of HEALTH & SCIENCE

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO  
EGAS MONIZ

**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE OLEOS  
ESSENCIAIS COM DIFERENTES MEDICAMENTOS INTRACANAIS  
ENDODÔNTICOS. ESTUDO IN VITRO.**

**Trabalho submetido por  
Amandine Lisong Cloitre  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária**

**setembro de 2024.**





EGAS MONIZ SCHOOL  
of HEALTH & SCIENCE

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO  
EGAS MONIZ

**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE OLEOS  
ESSENCIAIS COM DIFERENTES MEDICAMENTOS INTRACANAIS  
ENDODÔNTICOS. ESTUDO IN VITRO.**

**Trabalho submetido por  
Amandine Lisong Cloitre  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária**

**Trabalho orientado por  
Prof. Doutor Diego Antonio Velázquez González**

**e coorientado por  
Prof. Doutora Helena Barroso  
setembro de 2024.**



## AGRADECIMENTOS

A Egas Moniz, obrigada para ser a minha casa durante esses 5 anos.

Ao meu orientador, Prof. Doutor Diego Velázquez , pelo apoio e orientação ao longo deste processo. Obrigada pela sua ajuda e os seus conselhos ao longo de todo este percurso.

À minha coorientadora, Prof. Doutora Helena Barroso, pela disponibilidade e ajuda na parte laboratorial e na realização deste investigação.

Aos técnicos de laboratório Daniela, muito obrigada pela tua ajuda no laboratório.

Aos meus pais, por toda a ajuda, amor e apoio que recebo diariamente há 24 anos, e sem os quais esta tese nunca teria visto a luz do dia. - *À mes parents, pour toute l'aide, l'amour et le soutien que je reçois quotidiennement depuis 24 ans et sans qui cette thèse n'aurait jamais vu le jour*

Ao Lucas, que conseguiu me aturar e me apoiar durante este período. Obrigada pelos teus conselhos e todos os momentos juntos. Tu inspiraste-me a seguir em frente e a dar o meu melhor.

Aos Dr. Mercadier e Dr. Callet, por me terem oferecido lições valiosas e por me terem mostrado a paixão pela profissão. - *Aux Dr. Mercadier et Dr. Callet pour m'avoir offert de précieuses leçons et qui m'ont montré la passion du métier.*

À minha irmã, Obrigada por estares presente, à tua maneira, e por partilhares esta aventura comigo apesar da distância.- *À ma soeur, merci d'être présente à ta manière et pour partager cette aventure avec moi malgré la distance*

Ao Risotto



## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar a capacidade antibacteriana e antifúngica dos óleos essenciais de mirra e lavanda e compará-los com medicamentos intracanal.

**Materiais e métodos:** A atividade antimicrobiana de óleos essenciais de diferentes marcas (Pranarom, Pleno Natura e Ladrôme) e de medicamentos intracanaís (clorexidina, hidróxido de cálcio) foi verificada contra *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* utilizando o método de difusão em ágar. Em seguida, foram efectuadas medições da concentração mínima inibitória (CMI) utilizando o método de microdiluição em placas de 96 poços, a fim de avaliar com maior precisão a eficácia das diferentes marcas de óleos essenciais.

**Resultados :** Os testes de difusão em disco mostraram um efeito antimicrobiano moderado dos óleos essenciais. Em contraste, a clorexidina mostrou halos de inibição muito maiores, confirmando a sua eficácia superior em comparação com os óleos essenciais e o hidróxido de cálcio não mostrou nenhum halo.

Nos testes de microdiluição em poço, a lavanda apresentou CMIs de 0,4 a 0,6 mg/ml contra *C. albicans*, enquanto a mirra apresentou CMIs de 2,3 a 12,9 mg/ml. Para *E. faecalis*, as CMIs dos óleos de lavanda (PL e LL) e mirra (LM e PM) variaram entre 50 e 100 mg/ml, mostrando pouca inibição.

**Conclusão :** Este estudo destacou a importância de continuar a explorar as aplicações dos óleos essenciais em endodontia. Embora as suas propriedades naturais e benefícios potenciais, como um menor risco de desenvolvimento de resistências microbianas e propriedades ansiolíticas, sejam promissores, a sua eficácia como tratamento principal ainda necessita de mais evidências científicas e estudos clínicos aprofundados. No entanto, os óleos essenciais podem constituir uma alternativa complementar interessante em estratégias de tratamento endodóntico integradas, visando maximizar a eficácia enquanto minimizam os efeitos secundários e as resistências microbianas.

**Palavras-chave :** Óleo essencial, antibacteriano, antifúngico, endodontia





## ABSTRACT

**Objective :** This in vitro experiment aims to evaluate the antibacterial and antifungal power of myrrh and lavender essential oils and compare them with intracanal medications.

**Materials and Methods :** The antimicrobial activity of essential oils from different brands (Pranarom, Pleno Natura and Ladrôme) and intracanal medicines (chlorhexidine, calcium hydroxide) was checked against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* using the agar diffusion method. Minimum inhibitory concentration (MIC) measurements were then carried out using the microdilution method in 96-well plates in order to more accurately assess the efficacy of the different brands of essential oils.

**Results :** The disk diffusion tests showed a moderate antimicrobial effect of the essential oils. In contrast, chlorhexidine showed much larger inhibition halos, confirming its superior efficacy compared to the essential oils and calcium hydroxide showed no halo.

In the microdilution well tests, lavender showed MICs of 0.4 to 0.6 mg/ml against *C. albicans*, while myrrh showed MICs of 2.3 to 12.9 mg/ml. For *E. faecalis*, the MICs of lavender (PL and LL) and myrrh (LM and PM) oils ranged from 50 to 100 mg/ml, showing little inhibition.

**Conclusion :** This study highlighted the importance of continuing to explore the applications of essential oils in endodontics. Although their natural properties and potential benefits, such as a lower risk of developing microbial resistance and anxiolytic properties, are promising, their effectiveness as a primary treatment still requires more scientific evidence and in-depth clinical studies. However, essential oils can constitute an interesting complementary alternative in integrated endodontic treatment strategies, aiming to maximize effectiveness while minimizing side effects and microbial resistance.

**Keywords :** Essential oil, antibacterial, antifungal, endodontics



## ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS .....	7
ÍNDICE DE TABELAS .....	9
LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS, SIGLAS E SÍMBOLOS .....	11
I. INTRODUÇÃO .....	13
1. INTRODUÇÃO AOS PRINCÍPIOS DE ENDODONTIA .....	14
1.1. Anatomia do dente .....	14
1.2. Infecções endodónticas .....	18
1.3. Diagnóstico .....	26
1.4. Tratamento em endodontia .....	31
2. INTRODUÇÃO AOS ÓLEOS ESSENCIAIS .....	38
2.1 Técnicas de extração .....	38
2.2. Os diferentes usos .....	42
II – OBJETIVOS DO ESTUDO E HIPÓTESES .....	47
1. OBJETIVOS DO ESTUDO .....	47
2. HIPÓTESES EXPERIMENTAIS .....	47
III. MATERIAIS E MÉTODOS .....	49
1. Produtos testados .....	49
2. Estirpes de microrganismos utilizados .....	51
3. Produtos de laboratório.....	52
4. A Questão PICOST (População, Intervenção , Comparação, Resultados, Desenho do Estudo e tempo).....	53
5. Método de difusão com discos em ágar (F1).....	55
6. Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) (F2).....	57
IV. RESULTADOS.....	63
1 . RESULTADOS DO MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR NA BACTÉRIA <i>E. faecalis</i> .....	63
2 . RESULTADOS DO MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR NO FUNGO <i>C. albicans</i> .....	65
3 . RESULTADOS DA CMI COM <i>E. faecalis</i> .....	66
4 . RESULTADOS DA CMI COM <i>C. albicans</i> .....	68
V. DISCUSSÃO.....	71
VI- CONCLUSÃO.....	75
BIBLIOGRAFIA.....	77
ANNEXAS.....	89



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Representação da anatomia do dente .....	15
<b>Figura 2:</b> Representação esquemática das configurações dos canais segundo a classificação de Vertucci .....	17
<b>Figura 3:</b> Esquematização do método de difusão com discos em agar para verificar a atividade antibacteriana e antifúngica dos óleos essenciais em <i>C.albicans</i> (Placa 1) e <i>E.faecalis</i> (Placa 2) .....	54
<b>Figura 4:</b> Esquematização de uma placa permitindo avaliar a MIC. Cada coluna tendo uma concentração diferente e cada linha tendo um produto testado diferente .....	55
<b>Figura 5:</b> Preparação e leitura dos brancos.....	58
<b>Figura 6:</b> Preparação das suspensões microbianas .....	59
<b>Figura 7:</b> Preparação das diluições 1:10 .....	59
<b>Figura 8:</b> Diagrama esquemático da preparação da placa de 96 poços para determinação das CMI .....	60
<b>Figura 9:</b> Concentrações de compostos em cada poço .....	61
<b>Figura 10:</b> Exemplo de leitura do halo numa placa de Petri (Teste 1 do Pranarom) .....	63



## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resumo dos Resultados nos Diferentes Testes de Diagnóstico .....	30
<b>Tabela 2.</b> Materiais utilizados - Identificação dos óleos essenciais .....	49
<b>Tabela 3.</b> Reagentes e meios de cultura utilizados.....	52
<b>Tabela 5.</b> Quantidades de composto (q) e de meio (qm) utilizadas em µl .....	58
<b>Tabela 6.</b> Resultados obtidos no ensaio de difusão em agar com <i>E.faecalis</i> .....	64
<b>Tabela 7:</b> Parâmetros do TECAN usados na leitura das placas .....	65
<b>Tabela 8.</b> Resultados com <i>Enterococcus faecalis</i> (CMI em mg/ml) .....	66
<b>Tabela 9.</b> Resultados com <i>Candida albicans</i> (CMI em mg/ml).....	67
<b>Tabela 10.</b> Representação dos resultados com <i>Candida albicans</i> .....	68





## LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS, SIGLAS E SÍMBOLOS

µl - microlitros

AAE - *American Association of Endodontists*

ATCC - *American Type Culture Collection*

ATP – Adenosina Tri Fosfato

*C.albicans* - *Candida albicans*

CBCT (*Cone Beam Computer Tomography*)

CHX - clorexidina

CMI - Concentração Mínima Inibitória

EDTA - ácido etilenodiaminotetracético

*E.faecalis* - *Enterococcus faecalis*

EUCAST - *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

ex. - exemplo

Gluco-CHeX - digluconato de clorexidina

m - massa

Mcfl. - MacFarland

ml - mililitros

mg - miligramas

NaOCl - hipoclorito de sódio

NiTi - Nickel-titanium

nm - nanómetros

OMS - Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*)

PNM - Pleno Natura Mirra

PM - Pranarom Mirra

LM - Ladrome Mirra

PNL - Pleno Natura Lavanda

PL - Pranarom Lavanda

LL - Ladrome Lavanda

q - quantidade

qm - quantidade de meio

RPMI - *Roswell Park Medium Institute*



## I. INTRODUÇÃO

O uso intensivo de antibióticos levou ao desenvolvimento de bactérias resistentes aos antimicrobianos, resultando numa diminuição da eficácia dos tratamentos antibióticos tradicionais. Os óleos essenciais são principalmente derivados de folhas, frutos, resinas, sementes, madeiras, cascas e bagas. São chamados de "essenciais" porque capturam a essência da planta. As suas propriedades antimicrobianas, relacionadas com a sua composição química, configuração, quantidade e interações, tornam-nos valiosas na higiene bucal (Napoli & Di Vito, 2021).

Os óleos essenciais desempenham um papel polivalente na odontologia, oferecendo benefícios como propriedades ansiolíticas para aliviar o stress nos pacientes, uma alternativa aos colutórios de clorexidina ou uma capacidade antibiofilme para a prevenção de biofilmes. Os óleos essenciais possuem, assim, potencial como opção de prevenção e tratamento para uma variedade de condições bucais. A sua aplicação mais ampla como agente antimicrobiano e anti-inflamatório explica principalmente a sua utilização no campo dos cuidados dentários (Zhang & Yao, 2019).

Em endodontia, já é reconhecido o uso de alguns óleos essenciais, como o óleo essencial de cravo-da-índia, que faz parte dos compostos de eugenol (este último, quando misturado com óxido de zinco, permite a formação de um cimento provisório) ou o óleo essencial de laranja, pelas suas propriedades dissolventes durante os retratamentos endodônticos (Markowitz et al., 1992).

A lavanda faz parte da família das *Lamiaceae*, geralmente originária da região mediterrânica. O óleo de lavanda, muito apreciado pelo seu aroma, também é utilizado pelas suas propriedades terapêuticas sedativas, anti depressivas e para aliviar as dores de estômago. O óleo de lavanda é fácil de encontrar e comprar (El Ashry et al., 2003).

A mirra, goma-resina da árvore *Commiphora molmol*, era historicamente valorizada pelo Egito e pela Grécia antiga por suas propriedades anti-inflamatórias. Atualmente, é utilizada na boca para tratar gengivite, úlceras e feridas, com efeitos antimicrobianos presumidos. Embora testes tenham sido realizados com *Candida albicans* (*C.albicans*) e *Enterococcus faecalis*

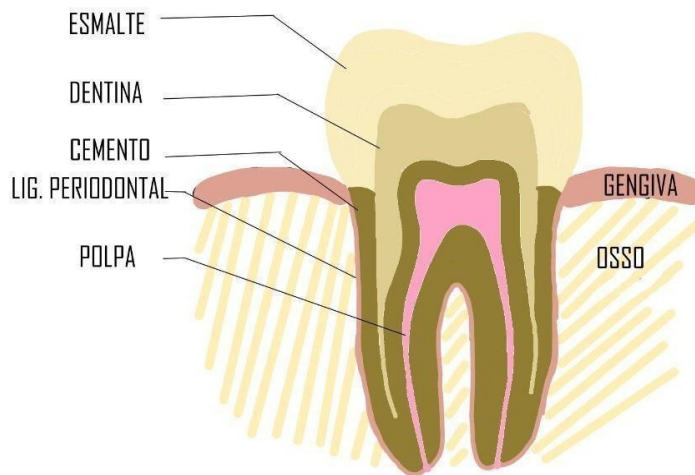
(*E.faecalis*), existem poucos estudos sobre os benefícios específicos do óleo essencial de mirra em endodontia (El Ashry et al., 2003).

## **1. INTRODUÇÃO AOS PRINCÍPIOS DE ENDODONTIA**

A endodontia concentra-se na morfologia, fisiologia e patologias da polpa e do tecido periradicular. O termo endodontia só surgiu como tal no século XX. Na verdade, anteriormente era falado apenas sobre terapia de canal ou *pathodontia*, que significa doenças dentárias. A etimologia da palavra endodontia vem do grego “*en*” que significa dentro e do grego “*odous*” que designa o dente. Para resumir, a endodontia é a disciplina odontológica que trata do interior do dente. Ela compreende a biologia, etiologia, diagnóstico, prevenção e tratamento de doenças e lesões pulpares e perirradiculares (Gutmann, 2018).

### **1.1. Anatomia do dente**

É importante conhecer a anatomia do dente e mais particularmente da polpa em endodontia para fornecer um diagnóstico e plano de tratamento adequados (Graham & Torabinejad, 2014). O dente é composto por diversos tecidos. De fora para dentro encontra-se: o esmalte, a dentina, o cimento e a polpa (Figura 1). O dente pode ser dividido em duas partes. Nomeadamente, a parte coronal, que é a parte visível do dente e a parte radicular, que é o prolongamento do dente. Numa boca sã e sem problemas periodontais, a parte radicular não é visível e permanece escondida na gengiva, presa ao osso que lhe permite permanecer no lugar (Black, 1902).



**Figura 1:** Representação da anatomia do dente (De autoria própria)

**O esmalte:** A parte coronal, ou coroa, é coberta principalmente por esmalte. O esmalte, está em contato com o meio externo. Ele tem a função de proteger o dente de ataques físicos ou bioquímicos. Para isso, possui uma estrutura sólida, considerada como a estrutura mais forte do corpo humano. O esmalte é composto por uma parte inorgânica (96%) que possui principalmente cristais de hidroxiapatita, de uma parte orgânica (4%) e de um pouco de água. Porém, embora muito resistente, o esmalte não é um tecido vivo, uma vez formado, ele não consegue mais se regenerar. Efetivamente, os ameloblastos, que são as células que permitem a formação do esmalte, desaparecem depois de cumprirem a sua função. Fica então sujeito a desgastes e riscos como traumas (fissuras, fraturas, etc.) ou cáries (Beniash et al., 2019).

**O cimento :** O cimento cobre a parte radicular do dente. É um tecido mineralizado secretado por células chamadas cementoblastos. O cimento faz parte do periodonto, ou seja, todos os tecidos que sustentam o dente, formado também pelo ligamento periodontal, a gengiva e o osso alveolar (Saito et al., 2023).

O cimento permite mais precisamente a adesão entre a raiz e o ligamento periodontal e, portanto, mantém a posição do dente no alvéolo. O cimento é o último dos três tecidos (esmalte, dentina e cimento) a ser descoberto, devido ao seu pequeno tamanho foi necessário aguardar a chegada do microscópio (Foster, 2017).

**A dentina** : A dentina é o que podemos considerar como o corpo do dente. Na verdade, encontra-se como uma segunda camada, quer seja na parte coronal ou radicular. Assim como o esmalte, a dentina é um tecido mineralizado calcificado, mas difere em sua composição. A dentina é avascular e consiste em uma parte inorgânica (70%), uma parte orgânica (20%) e também água (10%). Também encontraremos cristais de hidroxiapatita, embora os da dentina sejam muito menores do que os do esmalte (Beniash et al., 2019).

Existem vários tipos de dentina: dentina primária, dentina secundária e dentina terciária.

*A dentina primária* é a dentina formada durante o desenvolvimento do dente;

*A dentina secundária* é formada quando o dente já está desenvolvido. Este tipo de dentina continua a produzir-se ao longo da vida. Está mais próximo da polpa e é responsável pela calcificação dos canais.

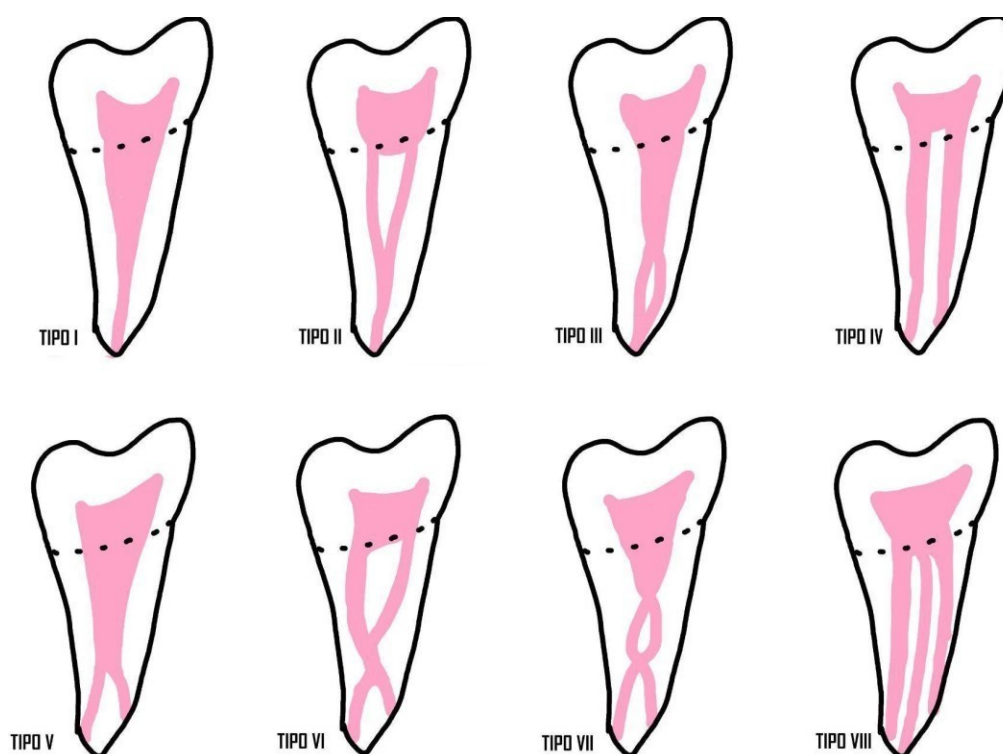
Finalmente, a *dentina terciária* é formada em resposta a um ataque ou a um agente patogênico, podemos ainda subdividir esta dentina em dentina de reação que ajuda a proteger a polpa durante um ataque leve a moderado e a dentina de reparação que é ativada durante uma agressão maior. No caso de uma agressão ligeira ou moderada, as células odontoblásticas são estimuladas e começam a produzir dentina de reação, que atua como uma espécie de barreira, protegendo a polpa do avanço da agressão. No caso de uma agressão mais grave, os odontoblastos são destruídos. Diz-se que a camada odontoblástica está comprometida. A dentina reparadora não é, portanto, produzida pelos odontoblastos, mas por outras células da polpa, que se diferenciam em odontoblastos - like (Neves & Sharpe, 2017).

**A polpa** : A polpa encontra-se no centro do dente, quer seja na zona coronal ou na zona radicular. A porção coronal é chamada de câmara pulpar. A parte da polpa contida nas raízes é o que chama-se de canais pulpares.

A câmara pulpar é composta por um “teto” acompanhado principalmente nos pré molares e molares; por dois cornos (em princípio nos molares, existe um corno por debaixo de cada cúspide), chamados cornos pulpares, de paredes e de um pavimento pulpar que leva aos diferentes canais. Embora sejam principalmente o esmalte e a dentina que recebem forças diretas após a mastigação, o teto da câmara pulpar ajuda a redistribuir essas forças.

A forma da polpa pode ser considerada como correspondendo aproximadamente à forma externa do dente. O número de cornos pulpares geralmente corresponde ao número de cúspides funcionais do dente. Por exemplo, um primeiro molar inferior provavelmente terá cinco cornos, assim como cinco cúspides (Scheid et al., 2012; Ahmed et al., 2023).

É através do orifício do canal que a câmara pulpar comunica com os canais pulpares. Estes últimos terminam fora do dente, em princípio por volta do final das raízes, através do foramen apical. O número e a morfologia dos canais variam entre cada dente. Uma classificação dos canais foi estabelecida por Vertucci com base na anatomia. Definimos principalmente oito tipos, representados na figura 2. Existem também os chamados canais acessórios ou canais laterais. Canais acessórios são canais que saem de um canal pulpar ou diretamente da câmara pulpar e chegam ao periodonto. São encontrados mais frequentemente no terço apical da polpa. Os canais laterais são canais acessórios que se localizam mais no terço médio ou na parte coronal (Scheid et al., 2012; Vertucci, 2005).



**Figura 2** - Representação esquemática das configurações dos canais segundo a classificação de Vertucci (De autoria própria)

A polpa, ao contrário dos tecidos anteriores, não é um tecido mineralizado. É um tecido mole que contém vasos sanguíneos, nervos e vasos linfáticos. Ela tem várias funções, incluindo uma função nutricional e defensiva, bem como uma função sensorial para o dente. Os nervos presentes na polpa permitem sentir pressão ou mudanças de temperatura (Lee et al., 2006).

**O complexo dentina-polpa** : A polpa e a dentina estão intimamente relacionadas e podem ser consideradas anatomicamente e funcionalmente como uma entidade única: o complexo

dentina-polpa. A dentina vai desempenhar um papel na proteção da polpa. Por outro lado, uma das funções da polpa é formar a dentina, ajudá-la em caso de agressão e formar o volume do dente com a dentina graças às células odontoblásticas. A dentina e a polpa comunicam através de túbulos, que são micro-canaís que contêm um fluido de origem pulpar. Cada tubulo abriga prolongamentos odontoblásticos, imersos no fluido dentinário. Os túbulos aumentam em densidade e diâmetro perto da polpa, tornando esta área mais permeável. São as células odontoblastos que permitem a formação da dentina. A estrutura tubular do complexo dentina-polpa permite também a comunicação entre a polpa, o esmalte e o cemento contribuindo para as respostas locais e a geração de sinais nociceptivos. (Graham & Torabinejad, 2014).

Se descrevermos o complexo dentina-polpa de fora para dentro, podemos encontrar:

- a dentina,
- a pré dentina que é na verdade uma matriz não mineralizada produzida por odontoblastos. É pela mineralização que a pré dentina posteriormente se torna dentina
- uma camada de odontoblastos, que estão em contato com a zona pré-dentina, na periferia da polpa (Lee et al., 2006)
- a camada acelular da polpa ou camada acelular de Weil. Esta última pode estar ausente em polpas jovens ou mais velhas devido aos diferentes estádios de formação da dentina.
- na camada rica em células, encontra-se principalmente fibroblastos (células que formam e destroem a matriz extracelular), células mesenquimais indiferenciadas (células que substituem os odontoblastos), células dendríticas e macrófagos (células do sistema imunológico).
- a própria polpa (Hargreaves et al., 2020)

## **1.2. Infecções endodónticas**

Como vimos anteriormente, o sistema de canais pulpares é coberto por diversas camadas que o protegem. Este sistema está de facto protegido e não possui uma microbiota ao contrário do resto da cavidade oral. É por isso que, quando os microrganismos penetram e atingem a polpa e esta passa de um estado saudável para um estado patológico (Ahmed et al., 2023).



### a ) As várias causas de aparecimento de infecção endodôntica

**Lesão de cárie** : A lesão de cárie é um dos fenômenos mais conhecidos e mais prevalentes na área odontológica. Pode acontecer em qualquer idade, em qualquer dentição e em qualquer localização do dente, seja na coroa ou na raiz (Pitts et al., 2017).

Segundo a *American Association of Endodontist* (AAE), a cárie é definida como uma infecção bacteriana localizada e progressiva que resulta na desintegração dentária, geralmente começando com a dissolução do esmalte seguida de invasão bacteriana (AAE, 2020).

Durante a fase inicial da cárie, não ocorrem necessariamente sintomas. Porém, em estádios mais avançados pode aparecer dor, infecções ou abscessos (WHO. , 2017).

O primeiro estágio clínico da cárie é a mancha branca que pode ser traduzida como *white spot*. A mancha branca resulta de um processo que dura vários meses embora só seja visível quando esta mancha branca aparece. A cárie, no esmalte, desenvolve-se lentamente, graças ao metabolismo bacteriano (Featherstone, 2008).

Depois vem o estágio de cárie do esmalte, onde o ataque ácido começa lentamente a penetrar no dente até formar fissuras ou buracos. Se a lesão de cárie não é tratada, ela afetará a segunda camada do dente: a dentina. Esta última comunica-se com a polpa e pode, portanto, causar danos iniciais à polpa através dos túbulos. Se permitirmos o desenvolvimento, a lesão de cárie se desenvolve e atinge o espaço pulpar (Sivapathasundharam, 2020).

É importante notar que mesmo tratada previamente, a cárie pode recomeçar se a restauração colocada não for adequada ou se com o tempo a restauração se deteriorar e perder a estanqueidade. Claro que também poderá haver recidiva devido a fatores de risco presentes no paciente (alimentação, higiene, patologias, etc.) (Laske et al., 2019; Van de Sande et al., 2016).

**Os traumas** : Um trauma é uma lesão devida a uma transmissão severa de energia ao dente e às suas estruturas, resultando numa fratura ou deslocamento do dente e/ou dos elementos à volta. Quanto à sua prevalência, são mais frequentemente encontrados em idades jovens, nomeadamente entre os 5 e os 12 anos, e devem-se frequentemente a quedas ou pancadas (Levin et al., 2020).

Infelizmente, estes podem causar infecção endodôntica, permitindo que os microrganismos invadam a polpa ou afetem diretamente a polpa. Existem vários tipos de traumatismos (Fouad, 2019).

Em primeiro lugar, podemos encontrar traumatismos que afetam os tecidos duros do dente, bem como a polpa, nomeadamente os traumatismos da coroa:

- fissura do esmalte; o esmalte é afetado mas não há perda de estrutura;
- fratura do esmalte; apenas o esmalte é afetado, mas desta vez com perda de estrutura dentária;
- fratura esmalte - dentina; a fratura estende-se à dentina com perda de estrutura;
- fratura esmalte - dentina - polpa; a fratura estende-se à dentina e a polpa fica diretamente exposta.

Outros tipos de trauma incluem a fratura da coroa e da raiz sem exposição pulpar, a fratura da coroa e da raiz com exposição pulpar, a fratura da raiz e a fratura do alvéolo dentário (DiAngelis et al., 2012).

Em seguida, o traumatismo pode ser classificado numa categoria conhecida como luxação. Para além do tecido dentário, a luxação também afeta o ligamento periodontal. Estes incluem:

- luxação extrusiva: o dente é deslocado verticalmente para fora do alvéolo dentário em direção à arcada oposta;
- luxação intrusiva: o dente é deslocado verticalmente para dentro do alvéolo dentário e afunda-se nele, chegando a fraturar o alvéolo;
- deslocamento lateral: o dente é deslocado lateralmente e afunda no alvéolo, chegando a fraturar o alvéolo;
- subluxação: o dente está no seu lugar, mas move-se e é sensível ao toque;
- concussão; o dente está no seu lugar, não se move e é sensível ao toque (DiAngelis et al., 2012).

**Efeitos iatrogénicos:** Certas complicações endodónticas podem ser devidas ao próprio profissional. Estas podem dever-se a erros no processo (diagnóstico, plano de tratamento incorreto, etc.) ou durante o procedimento médico (instrumentação, obturação, etc.) mas também através de outros tratamentos, como os tratamentos periodontais invasivos (Huang et al., 2024).

A fim de minimizá-los ao máximo, os profissionais devem estar o mais informados possível sobre as orientações institucionais mais recentes e adquirir o máximo de experiência possível. Vários estudos demonstraram que os tratamentos realizados por estudantes ou profissionais menos experientes são mais suscetíveis de resultar em erros iatrogénicos (Alamoudi et al., 2019; Eleftheriadis & Lambrianidis, 2005 ).

Na endodontia, os erros mais comuns são:

- Perfuração; muitas vezes devido a erros de instrumentação, que depois perfuram o dente e criam uma passagem entre o sistema de canais radiculares e o exterior do dente (Huang et al., 2024; Clauder, 2022).
- Separação de instrumentos: não é raro os instrumentos fraturarem-se durante a instrumentação, deixando parte do instrumento no sistema de canais radiculares. A não remoção do instrumento, dependendo da sua posição no canal, pode levar a complicações na limpeza e obturação do canal. Por exemplo, vários estudos observaram uma incidência de fraturas de instrumentos de aço inoxidável e Nickel-titanium (NiTi) rotatórios entre 0,25% e 10% (Huang et al., 2024; Terauchi et al., 2022).
- Não tratamento de certos canais; a anatomia do dente pode ser complexa e pode haver canais que o profissional não trata porque são difíceis de alcançar (particularmente canais acessórios) ou não são visíveis radiograficamente ou a exploração. No entanto, graças às novas tecnologias, é cada vez mais fácil reduzir este risco iatrogénico (Huang et al., 2024; Versiani et al., 2023).
- Sobre-instrumentação; a sobre-instrumentação pode causar irregularidades no sistema de canais radiculares (Huang et al., 2024).
- Dificuldades de irrigação; o objetivo da irrigação é principalmente a limpeza do canal, quer se trate da limpeza de resíduos devidos à instrumentação ou a bactérias. No entanto, os irrigantes são frequentemente citotóxicos para os tecidos vivos. Se entrarem durante extrusões acidentais para além do ápice da raiz, podem causar complicações como dor, danos nos nervos ou reacções inflamatórias. (Boutsioukis & Arias-Moliz, 2022).

**O periodonto:** Como já vimos anteriormente, uma das extremidades do canal é o foramen apical, um orifício que se abre para o periodonto e permite a comunicação endo-periodontal. A comunicação endo-periodontal também ocorre através dos canais laterais, acessórios e interradiculares e dos túbulos dentinários (Scheid et al., 2012; Heasman, 2014).

Sem esquecer que a comunicação também pode ser criada por trauma (por exemplo, fracturas radiculares) ou pelo profissional (por exemplo, perfurações) (Fouad, 2019; Clauder, 2022).

É através destas comunicações que as bactérias presentes na superfície dentária ou presentes no periodonto invadem a polpa. De acordo com Siew et al., vários estudos demonstraram que o periodonto pode ter efeitos sobre a polpa, particularmente no caso da doença periodontal. A

doença periodontal é de natureza inflamatória e é causada por determinadas bactérias. Também é conhecida como periodontite (Al-Fouzan, 2014).

A periodontite pode desencadear lesões endodonticas. Este é particularmente o caso quando a periodontite afeta o apex do dente e quando a raiz já não está coberta por cimento. A perda de cimento pode ser devida a reabsorções externas. Estas podem posteriormente atacar a dentina. Vários estudos mostraram que não há relação entre diferentes graus de periodontite e infecções endodonticas (Terlemez et al., 2018; Ricucci et al., 2021).

**Circulação sanguínea** : Um outro meio de invasão dos microrganismos na polpa é através da corrente sanguínea. Isso ocorre principalmente após trauma ou inflamação causada sem exposição pulpar (Narayanan et al., 2010).

O processo pelo qual várias substâncias, como as bactérias são atraídas e se instalam em zonas inflamatórias específicas é conhecido como anacorese. No contexto das infecções pulpares, esta noção sugere que, mesmo após o tratamento antisséptico do canal radicular, os tecidos inflamados podem continuar a albergar bactérias, promovendo assim o risco de reinfeção (Gutmann & Manjarrés, 2018).

## **b ) Os diferentes tipos de infecção**

Existem várias formas de classificar as infecções endodonticas. Elas podem ser classificadas de acordo com a sua localização em intra e extra-radiculares.

As infecções intra-radulares podem então ser classificadas como infecções primárias, secundárias ou persistentes, dependendo da cronologia do seu aparecimento (Siqueira et Fouad, 2009).

As infecções extra-radulares surgem frequentemente a partir de infecções intra-radulares e geralmente causam actinomicose periapical (Signoretto et al., 2011).

**As infecções primárias**: As infecções primárias são produzidas por microrganismos que invadem a polpa viva ou necrótica. A infecção primária ocorre frequentemente quando a polpa é exposta, nomeadamente em resultado de traumatismos, do periodonto, de cáries ou da corrente sanguínea. Os microrganismos que causam este tipo de infecção são geralmente bactérias de tipo anaeróbias. Ou seja, bactérias que não precisam de oxigénio (Hong et al., 2013).

**Infeções secundárias:** As infeções secundárias são causadas por microrganismos que não estão presentes na infeção primária. Geralmente, estas infeções surgem durante o tratamento ou mesmo após a conclusão do mesmo. Estão, portanto, mais ligadas a problemas iatrogênicos (Siqueira et Fouad, 2009).

**Infeções persistentes:** As infeções persistentes ocorrem quando os microrganismos remanescentes da infeção primária ou secundária não foram eliminados apesar do tratamento. Clinicamente, é difícil distinguir entre uma infeção persistente e uma infeção secundária (Siqueira et Fouad, 2009).

### c ) Microbiologia

Como já vimos, as infeções endodónticas são causadas pela invasão de microrganismos na área pulpar (Tennert et al., 2014).

De acordo com alguns estudos, quase 500 espécies diferentes podem estar envolvidas. Os microrganismos podem ser classificados em quatro grupos: bactérias, vírus, fungos e parasitas (Murray et al., 2005; Siqueira et Roças 2022).

**As bactérias:** As bactérias são microrganismos unicelulares. Existem dois tipos diferentes: Gram-positivo e Gram-negativo. Esses tipos diferenciam-se pelas suas paredes. As Gram-positivo têm uma parede espessa de peptidoglicano e as Gram-negativo têm uma parede fina de peptidoglicanos com uma segunda camada. As bactérias também podem ser subdivididas de acordo com uma série de critérios, incluindo o seu tamanho, forma e disposição espacial (Murray et al., 2005).

**Os vírus:** Os vírus são pequenas partículas infecciosas, sem células, que contêm ADN (ácido desoxirribonucleico) ou ARN (ácido ribonucleico). Precisam de uma célula hospedeira para se replicarem (Mahon e Manuselis, 2019).

**Os fungos:** Os fungos têm uma estrutura mais complicada. Tal como as bactérias, podem ser classificados em dois tipos principais: as leveduras (forma unicelular) e os bolores (forma filamentosa). No entanto, há fungos que combinam as duas formas, conhecidos como fungos dimórficos (Murray et al., 2005).

**Os parasitas:** Os parasitas são microrganismos que necessitam de um hospedeiro para sobreviver e podem ser unicelulares ou multicelulares. São frequentemente classificados de acordo com os seus meios de locomoção: alguns são não-móveis, outros possuem flagelos, pseudópodes, ou cílios (Mahon e Manuselis, 2019).

Os microrganismos encontrados nas infeções variam consoante os diferentes tipos de infeção (primária, secundária e persistente) e a localização geográfica dos indivíduos (Siqueira et Roças 2022).

A maioria das infeções primárias é causada por bactérias anaeróbias. Estas incluem espécies de *Fusobacterium nucleatum*, espécies de *Dialister*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, espécies de *Prevotella*, *Tannerella forsythia* e espécies de *Treponema*, que são bactérias Gram negativo. As bactérias Gram positivo incluem *Parvimonas micra*, *Filifactor alocis*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Olsenella uli*, espécies de *Actinomyces*, espécies de *Streptococcus*, espécies de *Propionibacterium* e *Cultinacterium acnes* (Siqueira et Roças 2022).

Os fungos incluem *Candida albicans*, *Candida sake*, *Rodotorula mucilaginosa* e *Saccharomyces cerevisiae*. A presença desses fungos está frequentemente associada ao facto de estarem presentes na saliva (Sen e Baksi, 2017).

Os microrganismos mais prevalentes nas infeções secundárias são *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Parvimonas micra* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *E.faecalis*, *P.gingivalis*, *F.nucleatum* e *A. actinomycetemcomitans* também são encontrados após o uso de medicação intracanal (Godoi-Jr et al., 2023).

Nas infeções persistentes, as bactérias mais frequentemente presentes são as espécies de *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Cultinacterium acnes*, *Fusobacterium nucleatum*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Arachnia propionica*, *Dialister*, *Parvimonas micra* e *Prevotella* (Siqueira et Roças, 2022).

Os microrganismos formam comunidades denominadas biofilmes. Estão ligados a uma superfície, mas também estão ligados uns aos outros por uma matriz produzida pelos próprios microrganismos. Mais especificamente, as moléculas orgânicas e inorgânicas juntam-se e fixam-se a uma superfície sólida, formando uma micro-colónia. Isto, por sua vez, leva à

formação de uma matriz polimérica composta por proteínas e ácidos nucleicos. Pouco a pouco, este agrupamento cresce e pode permanecer uma única espécie ou albergar diferentes espécies de bactérias. A certa altura, algumas bactérias migram do biofilme e formam uma microcolónia nas proximidades. Considera-se que o biofilme é mais resistente aos agentes antimicrobianos devido à sua estrutura, que dificulta a penetração; devido ao estadió das bactérias no biofilme, que têm recursos limitados e não crescem rapidamente, tornando-se mais resistentes; e devido à presença de *persisters*, que são células mais capazes de sobreviver aos ataques antimicrobianos (Hargreaves et al, 2020; Lehman e Marsik, 2019).

Em medicina dentária, os biofilmes sob a forma de placa bacteriana são particularmente comuns. Estes podem causar cáries, inflamação gengival ou doença periodontal, que, como vimos anteriormente, podem levar a infeções endodónticas. No entanto, também podem ser encontrados diretamente no canal e fora do canal, ligados à raiz (Lehman e Marsik, 2019; Signoretti et al., 2011).

### **c.1 ) *Enterococcus faecalis***

O microrganismo *Enterococcus faecalis* é uma das bactérias mais prevalentes nas infeções secundárias. Também se encontra, embora em menor quantidade, nas infeções primárias. Graças à sua grande resistência ao tratamento, esta bactéria também pode ser encontrada em infeções persistentes. Nomeadamente, encontra-se em ambientes ricos em nutrientes com baixo teor de oxigénio, como o trato gastrointestinal (*faecalis* refere-se a fezes) ou a cavidade oral (Tennert et al., 2014; Alberti et al., 2021).

Como o seu nome indica, é um membro da família *Enterococcus*. Os enterococos são bactérias Gram positivo dispostas aos pares ou em cadeias curtas. São anaeróbios facultativos e têm uma temperatura de crescimento ideal de cerca de 35°C. São bactérias que necessitam de nutrientes, pelo que o seu meio de cultura ideal é o ágar enriquecido com sangue (Murray et al., 2005).

### **c.2 ) *Candida albicans***

A levedura *Candida albicans* é um fungo dimórfico responsável principalmente pela candidíase. *C. albicans* é a espécie de *Candida* mais frequentemente detetada, embora seja

raramente encontrada em infecções endodônticas, e a mais patogénica encontrada na cavidade oral. (Sen e Baksi, 2017; Schaechter, 2009).

Nos seres humanos, encontra-se no intestino, no trato genital e, claro, na cavidade oral. Na cavidade oral, *C.albicans* é mais frequentemente encontrada na área atrás da língua, misturada com outros microrganismos em biofilmes (Alshanta et al., 2019; Alberti et al., 2021; Giovanni et al., 2018).

Este fungo é inicialmente inofensivo, mas torna-se patogénica em certas condições, como problemas imunitários, má higiene oral ou toma de determinados medicamentos. As leveduras do género *Candida* têm características que lhe permitem aderir bem às superfícies, produzir enzimas que danificam certos tecidos e contornar o sistema imunitário provocando inflamação. De acordo com alguns estudos, *C. albicans* tem uma afinidade particular pelo colagénio de tipo I presente na dentina. Graças a este facto, *C. albicans* é capaz de se infiltrar profundamente nos túbulos dentinários expostos (Giovanni et al., 2018).

### 1.3. Diagnóstico

O diagnóstico requer, em primeiro lugar, uma anamnese com o doente para recolher o máximo de informações sobre a sua história clínica (alergias, toma ou não de medicamentos, etc.) e os motivos da consulta (sintomas, data de início, etc.). Segue-se um exame clínico. O exame clínico consiste na observação do doente. Primeiro de forma geral, depois de forma mais precisa. Extra-oralmente, procuram-se sinais de assimetria, lesões, inchaços, etc. Intra-oralmente, observam-se os tecidos, as mucosas e os dentes, confirma-se os tratamentos já efetuados (restaurações, dentes em falta, etc.), os motivos das consultas e os outros tratamentos necessários (cáries, destarizações, etc.) (Hargreaves et al, 2020).

Para ajudar no diagnóstico, podem utilizar-se radiografias, que permitem confirmar o que é observado intra-oralmente e fornecer mais informações sobre o que não se consegue ver, como as raízes ou os ossos maxilares. Na endodontia, utilizam-se principalmente radiografias periapicais, que são radiografias 2D. Concentram-se num único dente e mostram o dente inteiro (da coroa ao apex) com o seu canal e o osso circundante (Setzer & Lee, 2021).

Também podem usar-se *bitewings*, que também são radiografias 2D que se concentram mais na parte coronal dos dentes. Essas radiografias são usadas principalmente para os molares e



premolares. As *bitewings* são mais utilizadas para procurar cáries ou para observar restaurações para determinar se estão ou não infiltradas. As lesões de cáries infiltradas ou não são formas através das quais as bactérias podem infiltrar-se e contaminar a polpa (Setzer & Lee, 2021).

Finalmente, as radiografias CBCT (*Cone Beam Computer Tomography*) são radiografias 3D que ajudam a identificar a localização dos canais. O CBCT é um método radiográfico rápido, não invasivo e não destrutivo para avaliar a anatomia dentária. Proporciona um método mais realista e eficaz de identificação da anatomia dentária, bem como da verdadeira extensão da patologia periapical. Assim, a informação adicional que o CBCT oferece aumenta a probabilidade de um diagnóstico correto, facilitando a tomada de decisões que impactam no plano de tratamento. (Setzer & Lee, 2021).

Depois das radiografias, a sensibilidade do dente é verificada através de vários testes comparativos:

**Testes térmicos** (frio e quente): Esta técnica consiste em aplicar um estímulo frio ou quente no dente. Para os testes a frio, existe vários testes mas o mais utilizado consiste em aplicar um spray frio em algodão que é depois aplicado na superfície do dente a testar e num dente saudável de controlo. Os testes ao calor são menos comuns, e fazemos o mesmo que para os testes frios, aplicando guttas perchas aquecidas ou água morna. Após a aplicação dos estímulos, o paciente é observado e questionado sobre as suas sensações (Kulild, 2008).

**Testes eléctricos:** É aplicado um estímulo eléctrico no dente e cronometrado até o doente sentir algo. Nos casos de necrose, o doente não iria sentir qualquer coisa. Assim, este teste não ultrapassa 40 segundos. Com o passar dos segundos, a intensidade eléctrica produzida aumenta (Kulild, 2008).

**Percussão:** O profissional bate ligeiramente no topo do dente. O paciente deve responder se sente alguma coisa anormal (Kulild, 2008).

**Palpação:** O profissional palpa os dentes e os tecidos circundantes (Kulild, 2008).

**Mobilidade:** O profissional verifica se os dentes têm mobilidade fisiológica ou aumentada. É muito importante nos casos de traumatismos (Kulild, 2008).

É de notar que os dentes testados são sempre comparados com dentes reconhecidos como saudáveis, frequentemente o dente adjacente ou contralateral. Além disso, as sensações são subjetivas e, portanto, variam entre diferentes indivíduos (AAE, 2013).

O diagnóstico em endodontia é efetuado a dois níveis. Existe um diagnóstico pulpar, bem como um diagnóstico apical. No entanto, os dois estão correlacionados e os testes podem ajudar em ambos os casos (AAE, 2013).

### **a.1 ) Diagnostico pulpar**

***Polpa normal*** : A polpa normal ou polpa são responde aos vários testes “normalmente”. Durante os testes térmicos, o paciente saudável deve sentir o estímulo frio e este deve desaparecer rapidamente (AAE, 2013) (tabela 1).

Radiograficamente, não há nada de anormal, embora possam ser observados diferentes graus de calcificação dos canais (Hargreaves et al, 2020).

***Pulpite reversível*** : De acordo com a *American Association of Endodontist*, a pulpite é “um termo clínico e histológico para a inflamação da polpa dentária; clinicamente descrita como reversível ou irreversível e histologicamente descrita como aguda, crônica ou hiperplásica” (AAE, 2020).

Radiograficamente, a polpa reversível não pode ser distinguida da polpa saudável. No entanto, é possível discernir as causas prováveis, tais como danos na polpa devido a cáries ou restaurações profundas. Após ser estimulado pelo frio, o paciente sente desconforto, que desaparece alguns segundos depois. A pulpite reversível pode ser confundida com sensibilidade dentinária (AAE, 2013) (tabela 1).

***Pulpite irreversível sintomática*** : A pulpite irreversível sintomática é um estágio de inflamação da polpa que não se cura sozinha e que apresenta sintomas como a dor. Durante a história clínica, o doente pode referir que a dor surge apenas com a mudança de posição e que não melhora apesar da toma de medicação analgésica. Após um estímulo térmico, o doente sente uma dor aguda e pode senti-la durante 30 segundos ou mais após a remoção do estímulo. No entanto, o doente pode não sentir nada no teste de percussão, uma vez que a inflamação não envolve os tecidos periapicais (AAE, 2013) (tabela 1).

Normalmente, há pouca ou nenhuma alteração radiográfica. No entanto, em alguns casos avançados de pulpite irreversível, o espessamento do ligamento periodontal pode tornar-se aparente na radiografia e pode haver sinais de irritação pulpar, tais como calcificação extensa da câmara pulpar ou dos canais radiculares (Hargreaves et al, 2020).

***Pulpite irreversível assintomática*** : Tal como a pulpite irreversível sintomática, a pulpite assintomática não se cura sozinha. Como o seu nome indica, ao contrário da pulpite sintomática, a pulpite assintomática não causa dor ao doente. A polpa responde de forma normal aos vários testes, ou seja, tem as mesmas respostas que um dente saudável. Radiograficamente ou clinicamente, pode-se suspeitar de pulpite observando possíveis causas como cáries profundas, traumas, etc. (AAE, 2013).

***Necrose pulpar*** : A necrose pulpar ou morte da polpa responde negativamente aos testes de vitalidade pulpar. O diagnóstico diferencial possível é a não resposta aos testes por causa de canais calcificados ou trauma recente (AAE, 2013) (tabela 1).

***Já tratado*** : Durante o tratamento endodóntico, a polpa é removida e os canais e a câmara pulpar são preenchidos com medicação intracanal ou material de obturação. Por conseguinte, estes últimos respondem negativamente aos testes de vitalidade pulpar. Os canais obturados podem ser identificados radiograficamente (AAE, 2013).

***Terapia já iniciada*** : Considera-se como tratamento já iniciado:

- um dente que foi submetido a uma pulpotomia (remoção total ou parcial da polpa coronária) ou pulpectomia (remoção completa do tecido pulpar);
- um dente que foi tratado de urgência e que necessitará de outra consulta para completar o tratamento

Estes dentes não respondem a testes de sensibilidade, uma vez que o nervo já foi removido (AAE, 2013).

**Tabela 1** : Resumo dos Resultados nos Diferentes Testes de Diagnóstico

	POLPA SÃ	PULPITE REVERSIVEL	PULPITE IRREVERSIVEL SINTOMATICA	PULPITE REVERSIVEL ASSINTOMATICA	NECROSE PULPAR	DENTE JÁ TRATADO	DENTE COM TERAPIA JÁ INICIADA
FRIO	+	+ passa logo após remoção do estímulo	+	+	-	-	+ / -
QUENTE	-	+ / -	+	-	+ / -	-	+ / -
ELÉTRICO	+	+	sem valor	+	sem valor	sem valor	sem valor
+ test positivo - test negativo							

## a.2 ) Diagnostico apical

**Tecido apical normal:** O tecido apical normal é negativo à percussão ou à palpação. Radiograficamente, não há nada a assinalar, o ligamento periodontal é uniforme e a lâmina dura está intacta (AAE, 2013).

**Periodontite apical sintomática:** A periodontite apical, com o sufixo “-ite”, indica uma inflamação do periodonto. Pode levar a perda óssea. A periodontite sintomática inclui dor à pressão (mastigação), percussão ou palpação. A polpa não responde necessariamente aos testes de vitalidade. Radiograficamente, é tão possível ver alterações no ligamento periodontal ou radiolucidez ao nível do periápice como não ver nada (AAE, 2013).

**Periodontite apical assintomática:** A periodontite apical assintomática caracteriza-se por inflamação e destruição do periodonto a volta do apex de origem pulpar, aparecendo como radiolucidez apical sem causar sintomas clínicos, ou seja, sem dor à percussão ou palpação (AAE, 2013).

**Abscesso apical crônico:** Os abscessos crônicos podem ser identificados clinicamente com uma ligeira sensibilidade localizada e pode haver um ligeiro inchaço (fistula). Radiograficamente, pode ser observada radiolucência no local do abscesso. Os abscessos

crônicos são reações inflamatórias devidas a uma infecção e podem ser ligeiramente dolorosos ou mesmo indolores (AAE, 2013).

***Abscesso apical agudo:*** Ao contrário dos abscessos crônicos, os abscessos agudos caracterizam-se por dor espontânea, aumento da sensibilidade à pressão, acumulação rápida de pus e inchaço. Radiograficamente, pode se observar uma zona radio transparente periradicular. (AAE, 2013).

***Osteíte de condensação:*** A osteíte condensante apresenta-se como uma lesão radiopaca difusa, indicando uma reação óssea local a um estímulo inflamatório de baixo grau, normalmente observada no apex do dente (AAE, 2013).

#### 1.4. Tratamento em endodontia

##### a ) Tratamento

O tratamento endodôntico é recomendado para casos de necrose, pulpíte irreversível ou lesões apicais. Se o dente já tiver sido tratado mas existirem sinais radiológicos de lesões apicais, o retratamento endodôntico pode ser aconselhado (Hargreaves et al., 2020).

***A proteção pulpar*** pode ser direta ou indireta. É geralmente utilizada quando, durante a remoção da cárie, é atingida um nível próximo da polpa. A proteção pulpar indireta consiste em cobrir a fina camada de dentina remanescente com um biomaterial indutor de remineralização (European Society of Endodontology, 2006).

***A proteção pulpar direta*** é utilizada quando a polpa está exposta. Esta proteção impede a contaminação da polpa e ajuda a polpa inflamada a tornar-se novamente saudável.

É de salientar que, se o doente sentir dor no dente, pode ser necessário passar ao tratamento endodôntico (European Society of Endodontology, 2006).

***A pulpotomia*** ou amputação pulpar consiste na remoção da parte inflamada da polpa, de modo a preservar a parte ainda saudável. Também é frequentemente efectuada em emergências dentárias, para aliviar o paciente enquanto aguarda o tratamento endodôntico (European Society of Endodontology, 2006).

**A pulpectomia** consiste na remoção de toda a polpa dentária, em particular da câmara pulpar. Pode ser considerada como uma consulta intermédia onde a vitalidade do dente é removida. De facto, pode ser considerada como o início do tratamento endodôntico (European Society of Endodontology, 2006).

Durante um tratamento de canal radicular, podem distinguir-se as diferentes fases: Anestesia, Isolamento do dente, Preparação da cavidade de acesso, Determinação do comprimento de trabalho, Preparação dos canais, limpeza do dente desinfeção e conformação do espaço pulpar completo e finalmente a obturação (European Society of Endodontology, 2006).

### **a . 1 ) Anestesia**

A anestesia local é uma etapa importante na endodontia, tal como na medicina dentária. Proporciona um maior conforto ao paciente e ajuda a controlar a dor. Existem diferentes tipos de anestesia, consoante o tipo de molécula utilizada. Estes podem ser acompanhados de vasoconstritores, que permitem, entre outros, diminuir o sangramento e abaixar o limiar de analgesia. Os anestésicos podem igualmente ser diferenciados em função da sua duração de ação: Anestésicos de ação curta (30 minutos), de ação intermédia (60 minutos) e de ação prolongada (mais de 90 minutos) (Hargreaves et al., 2020).

Os tipos de anestesia são também geralmente classificados de acordo com o local de injeção. Anestesia infiltrativa, anestesia intra-óssea e anestesia intraligamentar (AAE, 2009).

É importante informar-se sobre quaisquer alergias, medicamentos ou condições médicas que o doente esteja a tomar. A anestesia é também uma fonte de efeitos secundários e pode desencadear reações alérgicas e sistémicas, tal como parestesias e problemas cardíacos (Hargreaves et al., 2020).

### **a . 2 ) Isolamento**

O principal objetivo do isolamento absoluto em endodontia é evitar a contaminação bacteriana e levar a uma melhor eficácia do tratamento endodôntico. No entanto, é importante referir algumas das outras vantagens do isolamento, como a melhoria da visibilidade, a proteção dos

tecidos do doente e a prevenção da perda de instrumentos, que o doente poderia potencialmente engolir (Patel & Hamer, 2021).

**Dique:** O isolamento é geralmente conseguido utilizando um dique de borracha. Para os doentes alérgicos ao látex, existem também diques sem látex ou outras formas de isolamento. Por exemplo, existe o isolamento relativo utilizando algodão e sucção. No entanto, este tipo de isolamento não oferece o mesmo controle e proteção do que o isolamento absoluto (Patel & Hamer, 2021).

**Arco:** Alguns diques têm arcos diretamente integrados. O objetivo do arco é esticar a dique para dar ao praticante um melhor campo de visão (Patel & Hamer, 2021).

**Grampo:** O grampo mantém o dique no lugar, assegurando um isolamento efetivo do campo operatório. É colocado à volta do dente a ser tratado. Existem diferentes formas e tamanhos de grampo para se adaptarem a diferentes dentes (Patel & Hamer, 2021).

### **a . 3 ) Preparação da cavidade de acesso**

A cavidade de acesso permite um melhor acesso, uma melhor visibilidade e um melhor manuseamento dos instrumentos de limpeza, instrumentação e obturação dos canais. Para tal, a cavidade deve chegar à câmara pulpar e abrir completamente o teto desta última, criando uma visão direta da câmara pulpar e das entradas dos canais. Tendo como objetivo permitir uma passagem sem obstáculos (com a menor rugosidade possível e eliminando os vários relevos), preservando o máximo possível da estrutura dentária saudável (European Society of Endodontology, 2006).

É igualmente importante que a cavidade tenha quatro paredes. Em primeiro lugar, isto permite que a dique com grampo seja posicionada corretamente. Também ajuda a garantir uma boa irrigação (as soluções de irrigação permanecem na cavidade) e boas marcações para os instrumentos. (European Society of Endodontology, 2006).

#### **a . 4 ) Determinação do comprimento de trabalho**

A determinação do comprimento de trabalho permite que o canal seja preparado o mais próximo possível do apex. Uma vez determinado o comprimento do canal (odontometria), geralmente subtraímos 0,5 mm para obter o nosso comprimento de trabalho (Walton, 2002). O comprimento de trabalho é medido utilizando um localizador apical ou uma radiografia. Também podem ser tiradas radiografias após a utilização do localizador de ápice para efetuar uma segunda verificação ( European Society of Endodontology, 2006).

#### **a . 5 ) Preparação do sistema de canais radiculares**

A preparação do sistema de canais radiculares pode ser dividida em três fases: Limpeza, desinfecção e modelação dos canais. Embora sejam conceitos diferentes, essas três fases ocorrem ao mesmo tempo. (Kim-Park et al., 2003)

**Limpeza** : Quando um dente precisa de ser limpo, é porque a polpa inflamada ou morta deixa espaço para as bactérias. A câmara pulpar e os canais devem, portanto, ser “limpos”, eliminando o tecido pulpar remanescente, os vários microrganismos (desinfecção) e os detritos antes e durante a modelação dos canais (Neelakantan et al., 2022).

**Modelação dos canais** : A modelação dos canais permite alargar e formar uma passagem mais fácil para os instrumentos. O canal preparado deve seguir a anatomia do canal original e o seu diâmetro diminui em direção ao ápex do dente (Neelakantan et al., 2022).

#### **a . 6 ) Os irrigantes**

Durante a preparação dos canais, é importante utilizar irrigantes. A sua ação mecânica e química lubrifica os instrumentos e remove os vários resíduos e microrganismos da cavidade. Atualmente se realiza irrigação combinada de vários irrigantes (Zehnder, 2006).

O principal irrigante utilizado é o hipoclorito de sódio (NaOCl), que tem a grande vantagem de ser capaz de dissolver eficazmente os tecidos orgânicos. Além disso, possui também propriedades antimicrobianas e lubrificantes e um mecanismo de ação rápido. No entanto, embora o seu mecanismo de ação seja rápido, não é duradouro. Outra desvantagem é que o hipoclorito de sódio é tóxico e pode causar irritação nos tecidos periapicais.



A clorexidina, por outro lado, é menos tóxica e tem uma atividade antimicrobiana significativa. No entanto, ao contrário do NaOCl, não dissolve os tecidos e não é efetiva contra as endotoxinas.

O EDTA, ou ácido etilenodiaminotetracético, é um irrigante que remove o material inorgânico, expondo os túbulos dentinários e preparando a superfície para fármacos intracanaais ou outros irrigantes. No entanto, este irrigante não é muito eficaz como agente antimicrobiano (Zehnder, 2006).

### **a. 7 ) Obturação**

Depois de os canais terem sido limpos e desinfetados, é importante selá-los para impedir a passagem de microrganismos. Para isso, são utilizados materiais semi-sólidos (principalmente guta percha) combinados com selantes (cimento endodôntico). Para se obter uma boa obturação, os canais devem ser preenchidos e os materiais devem ser biocompatíveis, radiopacos, para facilitar os controlos radiográficos, dimensionalmente estáveis, não se moverem após a colocação e não permitirem o crescimento bacteriano ( European Society of Endodontology, 2006).

### **b ) Medicação intracanal**

Na endodontia, os medicamentos intracanaais desempenham papéis cruciais para melhorar o sucesso do tratamento do canal radicular. Estes medicamentos atuam como adjuvantes aos procedimentos de tratamento principais, visando moderar a dor, reduzir a presença bacteriana e os seus subprodutos, acelerar o processo de cicatrização, e eliminar os microrganismos persistentes no sistema de canais após a preparação químico-mecânica (Siu et al., 2024).

#### **b. 1 ) O hidróxido de cálcio**

Entre esses medicamentos, o hidróxido de cálcio é o mais comumente utilizado devido às suas propriedades antimicrobianas, que incluem a melhoria do estado microbiológico do sistema de canais, pela redução dos níveis de bactérias, além de atuar como um agente anti-endotoxina eficaz (Santoyo, 2024).

O pH elevado do hidróxido de cálcio é crucial para as suas propriedades antimicrobianas, pois pode alterar e destruir os polissacarídeos da parede celular bacteriana. Esta propriedade permite

que o hidróxido de cálcio interaja diretamente com as bactérias, tornando-o um medicamento intracanal eficaz. Além disso, foi constatado que o hidróxido de cálcio é eficaz no tratamento de infecções localizadas nas ramificações dos canais radiculares quando usado como medicação intracanal (Silva et al., 2019).

No entanto, algumas espécies microbianas como *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *Actinomyces radicidentis* podem permanecer viáveis nos níveis de pH alcalino induzidos pelo hidróxido de cálcio, tornando-se resistentes a este tipo de medicamento (Lima et al., 2015; Waltimo et al., 1999).

Além disso, as desvantagens associadas ao hidróxido de cálcio como medicação intracanal incluem a longa duração do tratamento, a necessidade de substituir sucessivamente o medicamento devido à sua degradação ao longo do tempo (perda de eficácia antimicrobiana, dissolução ou lixiviação pelos fluidos dos tecidos ou absorção pelos tecidos circundantes) e o potencial enfraquecimento da estrutura radicular após uso prolongado (Panzarini et al., 2011).

Em termos de resultados pós-operatórios, estudos compararam o uso de diferentes veículos com hidróxido de cálcio como medicação intracanal e descobriram que a mistura de hidróxido de cálcio com solução salina normal ou digluconato de clorexidina resultou em resultados pós-operatórios favoráveis (Siu et al., 2024).

## **b . 2 ) A clorexidina**

Em endodontia, a clorexidina tem despertado atenção significativa como medicação intracanal devido às suas propriedades antimicrobianas e sua substantividade. A clorexidina tem sido sugerida como irrigante no tratamento endodôntico devido à sua atividade antimicrobiana de amplo espectro e à sua capacidade de se ligar às superfícies dentinárias, oferecendo resistência prolongada à colonização microbiana. Estudos mostraram que a clorexidina pode ser eficaz como medicação intracanal, demonstrando boas propriedades antimicrobianas e adesão à dentina do canal radicular (Gomes et al., 2003).

Vários estudos destacaram a eficácia da clorexidina como medicação intracanal, mostrando sua capacidade de prevenir a reinfeção da dentina por até 72 horas e sua liberação gradual e prolongada em níveis terapêuticos (Evans et al., 2003).

Além disso, foi comprovado que a clorexidina é retida na dentina, proporcionando ação antimicrobiana sustentada contra biofilmes, com resultados melhorados observados após 7 dias de aplicação (Santoyo, 2024).

A sua atividade antimicrobiana estende-se a vários microrganismos comumente encontrados em infecções endodônticas, como *Enterococcus faecalis* (Gomes et al., 2003).

Além disso, a clorexidina oferece vantagens como biocompatibilidade, solubilidade em água e viscosidade, que facilitam o seu uso como irrigante endodôntico. A clorexidina mantém sua atividade desinfetante mesmo após o contato com matéria orgânica, distinguindo-se de outros irrigantes comumente usados, como o hipoclorito de sódio (Zehnder, 2006).

### **b.3 ) Outros medicamentos intracanal**

Além do hidróxido de cálcio e da clorexidina, outros medicamentos intracanaís como a pasta antibiótica tripla contendo metronidazol, ciprofloxacina, minociclina ou corticoides são usados na terapia endodôntica regenerativa para desinfetar o canal e promover a reparação dos tecidos (Siddiqui et al., 2019).

Estudos também avaliaram os efeitos de diferentes medicamentos intracanaís nos níveis de fixação periodontal em lesões endo-periodontais concomitantes, com o hidróxido de cálcio e o hidróxido de cálcio com clorexidina demonstrando efeitos positivos (Bansal et al., 2018).

Além disso, a pasta de quitosano foi estudada devido à sua eficácia contra biofilmes de *E. faecalis* e *C. albicans*, comparativamente ao hidróxido de cálcio (Thienngern et al., 2022).

## **2. INTRODUÇÃO AOS ÓLEOS ESSENCIAIS**

Os óleos essenciais são conhecidos desde a antiguidade. Há testemunhos do antigo Egito, textos na literatura védica da Índia e manuscritos chineses. Eram utilizados pelo seu aroma, na cosmética e na medicina (Grace, 2000).

Os óleos essenciais em medicina fazem parte da aromaterapia. Existe, no entanto, uma diferença entre aromaterapia e fitoterapia. A fitoterapia utiliza diretamente as plantas, enquanto a aromaterapia utiliza os compostos aromáticos das plantas (Grünwald e Jänicke, 2009).

Os óleos essenciais devem também ser distinguidos da essência e do hidrolato. A essência é constituída por componentes aromáticos que se encontram no interior das glândulas secretoras de essência das cascas frescas de citrinos. O hidrolato é o vapor de água remanescente que se separa do óleo essencial durante as técnicas de extração a vapor e que, uma vez condensado, contém uma pequena percentagem de óleo essencial. Ao contrário dos óleos essenciais, os hidrolatos são solúveis em água (Jugreet et al., 2020).

Existem várias formas de extrair os óleos essenciais: destilação a vapor, extração mecânica a frio, enfleurage, hidrodestilação, hidrodifusão e extração com fluidos específicos. Eles podem ser extraídos de folhas, flores, sementes, frutos ou resinas (Reyes-Jurado et al., 2014).

### **2.1 Técnicas de extração**

#### **a.1 ) Destilação a vapor**

Em primeiro, a água é aquecida para produzir vapor. O vapor passa depois para outro recipiente que contém os extractos de plantas. O calor liberta as moléculas aromáticas, que se misturam com o vapor. Ao arrefecer, este vapor transforma-se em água e em óleo essencial. Estas duas substâncias separam-se naturalmente, pois o óleo essencial é mais leve do que a água. A destilação a vapor minimiza a alteração das substâncias aromáticas (Tongnuanchan & Benjakul, 2014).

## **a.2 ) Hidrodestilação**

A hidrodestilação é uma técnica semelhante à destilação a vapor. No entanto, ao contrário desta última, os extractos vegetais e a água encontram-se no mesmo recipiente (Tongnuanchan & Benjakul, 2014).

## **a.3 ) Hidrodifusão**

Existe também uma outra variação, a hidrodifusão, que é semelhante à hidrodestilação, mas o vapor é introduzido nos extractos de plantas a partir de cima e move-se para baixo (Tongnuanchan & Benjakul, 2014).

## **a.4 ) *Enfleurage***

O enfleurage é um método tradicional de extração de perfume das flores. Uma camada de gordura é colocada num prato rodeado por uma estrutura de madeira. As flores recém-colhidas são colocadas sobre esta gordura, mas devem estar isentas de humidade para evitar que a gordura fique estragada. Passadas 24 horas, as flores são retiradas à mão e os quadros são recarregados com novas flores. Este processo repete-se diariamente durante cerca de 70 dias, até que a gordura esteja saturada de perfume. A gordura perfumada é então raspada das placas de vidro, derretida e armazenada em recipientes fechados, formando a pomada final. Esta é posteriormente processada através de um processo de destilação para obter a forma de óleo essencial (Reyes-Jurado et al., 2014).

## **a.5 ) Expressão mecânica a frio**

A expressão mecânica a frio é utilizada, nomeadamente, para recuperar a essência da casca de citrinos. Esta técnica consiste em pressionar a casca de citrinos para quebrar as células que contêm a essência (Reyes-Jurado et al., 2014).

#### **a.6 ) Extração com fluidos específicos**

Esta técnica de extração é utilizada para plantas sensíveis ao calor, como o jasmim ou a rosa. Consiste em utilizar um solvente orgânico para separar o óleo essencial, que é depois evaporado para recuperar o extrato aromático. Por fim, este extrato é purificado por lavagem com álcool (Reyes-Jurado et al., 2014).

#### **b ) Composição dos óleos essenciais**

Os óleos essenciais são compostos naturais produzidos pelas plantas. O seu odor característico e as suas propriedades dependem da sua composição. Esta composição pode variar consoante o estágio de desenvolvimento da planta, o seu ambiente, a parte da planta utilizada ou a sua localização geográfica (Swamy et al., 2016).

Os óleos essenciais são misturas complexas que contêm até 400 componentes químicos diferentes. As moléculas podem ser agrupadas por “família”: sesquiterpenos - aldeídos - fenóis - monoterpenos - óxido de monoterpeno - cetonas - ésteres - éteres. Os grupos químicos mais importantes são os monoterpenos e os sesquiterpenos. Eles contribuem para a volatilidade e o odor característico dos óleos essenciais (De Sousa et al., 2023; Jugreet et al., 2020).

As diferentes famílias têm também funções diferentes.

**Os sesquiterpenos:** têm propriedades calmantes e anti-inflamatórias, particularmente em doenças crónicas (por exemplo, o óleo essencial de gengibre).

**Os aldeídos:** têm propriedades anti-inflamatórias mais potentes e são também bons agentes de cicatrização da pele. Deve ser feita uma distinção entre os aldeídos terpenos (por exemplo, o óleo essencial de eucalipto), que não são tóxicos, mas podem irritar a pele, e os aldeídos aromáticos (por exemplo, o óleo essencial de canela), que são tóxicos e dermocausticos.

**Os fenóis:** são anti-infecciosos potentes, mas não são recomendados para utilização a longo prazo, uma vez que são altamente tóxicos e têm efeitos secundários cancerígenos e abortivos (por exemplo, óleo essencial de cravinho).

**Os monoterpenóis (ou álcool monoterpênico):** são anti-infecciosos moderados (por exemplo, óleos essenciais de árvore do chá).

**Os monoterpenos :** têm propriedades antitúscas e anti náuseas e são bons anti-sépticos atmosféricos (por exemplo, óleo essencial de limão amarelo).

**Os óxidos de monoterpenos:** são fluidificantes e expectorantes (por exemplo, óleo essencial de alecrim).

**As cetonas:** são relaxantes, cicatrizantes e anti espasmódicas (por exemplo, o óleo essencial de hortelã-pimenta).

**Os ésteres:** são calmantes, anti espasmódicos e relaxantes (por exemplo, óleo essencial de lavanda fina). Quanto mais longa for a cadeia de carbono do ácido carboxílico, mais potente é a sua ação espasmolítica.

**Os éteres:** têm as mesmas propriedades que os ésteres, mas são mais potentes (por exemplo, óleo essencial de louro nobre) (Couic-Marinier & Lobstein, 2013).

### **c) Mecanismos de ação dos óleos essenciais**

#### **c.1 ) Mecanismo de ação contra as bactérias**

A atividade antibacteriana dos óleos essenciais baseia-se numa série de reações bioquímicas no interior da célula bacteriana, influenciadas pelos componentes químicos desses óleos. Esta atividade varia em função do tipo de bactéria visada, nomeadamente bactérias Gram positivo ou Gram negativo, devido a diferenças na composição da sua membrana celular (Nazzaro et al., 2013).

Os óleos essenciais têm a capacidade de atuar em diferentes frentes.

Podem alterar a estrutura da parede celular, induzir a coagulação de proteínas citoplasmáticas, perturbar a permeabilidade da membrana, modificar a composição dos ácidos gordos da membrana e até interferir com o *quorum sensing* (meio de comunicação bacteriano). Por

exemplo, certos compostos podem formar canais na membrana, provocando a saída de íons e de componentes celulares (Tariq et al., 2019).

Além disso, os óleos essenciais podem modificar a fluidez da membrana, aumentando a quantidade de ácidos gordos saturados e diminuindo a quantidade de ácidos gordos insaturados. Esta ação na membrana pode levar a uma perda de Adenosina Tri Fosfato (ATP), essencial para a sobrevivência das células. Alguns óleos também demonstraram perturbar a *quorum sensing*, reduzindo assim a formação de biofilmes bacterianos. Em suma, os óleos essenciais oferecem uma abordagem versátil para combater as bactérias, atuando a vários níveis para perturbar o seu funcionamento e sobrevivência (Tariq et al., 2019).

### **c.2 ) Mecanismo de ação contra os fungos**

Os óleos essenciais têm uma atividade antifúngica semelhante à das bactérias Gram-positivo. Alteram a parede celular e a membrana dos fungos, provocando a fuga do conteúdo celular e, em última análise, a morte celular, tal como acontece com as bactérias. Além disso, podem inibir a síntese de componentes celulares essenciais, como o ADN, o ARN e as proteínas, tanto nos fungos como nas bactérias. Estas ações estão frequentemente ligadas à perturbação da produção de ATP, levando a danos nas membranas e à desintegração das membranas mitocondriais (Jugreet et al., 2020).

A eficácia dos óleos essenciais pode ser limitada pelo potencial desenvolvimento de resistência fúngica e, geralmente, têm uma atividade antifúngica mais fraca do que os antifúngicos sintéticos. Além disso, a sua absorção intestinal é por vezes limitada, o que pode restringir a sua eficácia como tratamentos orais (Tariq et al., 2019).

## **2.2. Os diferentes usos**

O aumento da resistência bacteriana é um grave problema de saúde pública. Este fenómeno torna as infeções bacterianas mais difíceis de tratar e pode levar a complicações graves ou mesmo fatais. Por conseguinte, a utilização de óleos essenciais na medicina tem suscitado um interesse crescente ao longo dos anos. Como vimos anteriormente, as suas propriedades antibacterianas, antivirais, antifúngicas e anti-inflamatórias tornam-nos remédios naturais versáteis. Também foram observados efeitos sinérgicos entre vários componentes do óleo essencial contra vários agentes patogénicos humanos. Além disso, a utilização de antibióticos



em doses elevadas pode ter efeitos tóxicos no ser humano. Os óleos essenciais e os seus principais componentes químicos têm um potencial interessante como agentes antibacterianos alternativos (Swamy et al., 2016).

### **a ) Efeitos psicológicos**

Os óleos essenciais também estão a ser explorados pela sua utilização na psicologia e na saúde mental, oferecendo um novo ângulo de tratamento para doenças como a ansiedade e a depressão.

Alguns óleos essenciais, como a lavanda, a laranja doce e a bergamota, demonstraram ter propriedades ansiolíticas, reduzindo os níveis de stress e promovendo o relaxamento. Podem ser utilizados em contextos terapêuticos para ajudar a acalmar a mente e a aliviar os sintomas de ansiedade. Estudos clínicos demonstraram que a inalação de óleos essenciais pode reduzir os sentimentos de ansiedade e promover uma sensação de bem-estar emocional. Embora a investigação esteja em curso, alguns óleos essenciais, como o de lavanda, parecem ter efeitos benéficos sobre os sintomas da depressão. Podem atuar estimulando os neurotransmissores relacionados com o humor, reduzindo o stress oxidativo e promovendo um sono reparador. A aromaterapia com óleos essenciais pode ser utilizada juntamente com outros tratamentos para a depressão para ajudar a melhorar o humor e o bem-estar geral (Ramsey et al., 2020).

### **b ) Utilizações em medicina veterinária**

Os óleos essenciais podem ser divididos em várias categorias no domínio veterinário. A mais conhecida é a de inseticida ou repelente de insetos. O óleo de citronela, por exemplo, também é utilizado nos seres humanos.

Os óleos essenciais são também utilizados na alimentação animal, na sequência da proibição dos antibióticos. São também utilizados para estimular a produção de sucos pancreáticos e gástricos, a saliva e o apetite. No entanto, devem ser utilizados com moderação, pois podem ter efeitos secundários como a redução da ingestão de alimentos, a acumulação nos tecidos dos animais e a perturbação da microflora intestinal.

Para além destas utilizações, os óleos essenciais são também utilizados para atrair ou repelir determinados animais (Napoli & Di Vito, 2021).

### **c ) Utilizações em medicina geral**

Para além de serem utilizadas na saúde mental e como antimicrobianos, as suas propriedades anti-inflamatórias são frequentemente exploradas para aliviar as dores musculares e articulares. Por outro lado, as suas propriedades antioxidantes são particularmente úteis para combater os efeitos dos radicais livres no organismo. Os radicais livres são responsáveis pelo envelhecimento celular e danificam as células. Assim, certos óleos são utilizados para proteger a pele contra os efeitos do envelhecimento ou das agressões ambientais, nomeadamente os óleos de alecrim e de tomilho (Ramsey et al., 2020).

### **d ) Odontologia**

Em medicina dentária, os óleos essenciais são utilizados pelas suas propriedades calmantes na cirurgia e em certos tratamentos.

Em endodontia, os óleos essenciais podem ser encontrados particularmente durante as fases de retratamento. O óleo de laranja e o óleo de eucalipto dissolvem as guttas perchas, facilitando a sua remoção. Além disso, um dos compostos mais utilizados em endodontia é o eugenol, que atua com o óxido de zinco para formar um penso temporário. O eugenol é, de facto, um dos ingredientes ativos do óleo essencial de cravo-da-índia (Markowitz et al., 1992).

Os óleos essenciais são também utilizados para tratar doenças periodontais como a gengivite e a periodontite. São utilizados para combater a inflamação da polpa e para desinfetar o dente, ajudando a eliminar eficazmente a dor. Numa primeira fase, os óleos podem ser utilizados como medida preventiva, numa tentativa de reduzir a placa dentária nos pacientes. A placa bacteriana desempenha um papel fundamental na inflamação das gengivas, que são atacadas pelas bactérias da placa bacteriana, levando à gengivite e depois à periodontite. Para o conseguir, os óleos essenciais podem ser misturados com elixires. Os elixires que contêm óleos essenciais como o óleo da árvore do chá e o óleo de cravinho são benéficos, reduzindo significativamente as bactérias após três semanas (Zhang et al., 2019).

Mais uma vez, graças às suas propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas e antifúngicas, os óleos essenciais podem ser utilizados para tratar certas condições orais como a candidíase oral, a alveolite, a halitose e os cálculos salivares (Jugreet et al., 2020).

### **e) Outras utilizações**

Os óleos essenciais são também ingredientes populares em muitos produtos cosméticos devido aos seus benefícios para a pele e o cabelo. Alguns óleos essenciais têm propriedades antioxidantes que ajudam a combater os sinais de envelhecimento da pele, enquanto outros são utilizados para tratar o acne, o eczema e outras doenças da pele (Ramsey et al., 2020).

Alguns óleos essenciais são aprovados para utilização alimentar e são utilizados como aromatizantes naturais na cozinha. São utilizados para dar sabor e aroma aos pratos. No entanto, também podem ter um papel na conservação dos alimentos graças às suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (Ramsey et al., 2020).

Graças a estas propriedades, os óleos essenciais também podem ser encontrados em produtos domésticos, como desinfetantes, detergentes para a roupa e produtos de limpeza multi-superfícies, bem como em ambientadores para limpar e higienizar superfícies, purificar o ar e criar uma atmosfera agradável em casa (Ramsey et al., 2020).

Resumindo, os óleos essenciais são produtos naturais versáteis utilizados em muitos domínios, desde a medicina alternativa e a culinária até aos cuidados da pele e produtos domésticos, graças às suas inúmeras propriedades benéficas para a saúde e o bem-estar.



## II – OBJETIVOS DO ESTUDO E HIPÓTESES

### 1. OBJETIVOS DO ESTUDO

O objetivo geral deste estudo foi avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica do óleo de mirra (*Commiphora molmol*) e do óleo de lavanda (*Lavandula angustifolia*) e determinar os seus CMI's. Isto permitir-nos-á avaliar a sua potencial utilização em endodontia.

### 2. HIPÓTESES EXPERIMENTAIS

As várias hipóteses nulas deste projeto correspondem ao facto de os óleos de mirra e de lavanda poderem não ter uma atividade antibacteriana ou antifúngica.

**Hipótese nula 1:** O óleo de mirra não tem uma atividade antibacteriana.

**Hipótese nula 2:** O óleo de mirra não tem uma atividade antifúngica.

**Hipótese nula 3:** O óleo de lavanda não tem uma atividade antibacteriana.

**Hipótese nula 4:** O óleo de lavanda não tem atividade antifúngica.

**Hipótese nula 5:** Não existir diferenças antibacterianas entre os diferentes fabricantes dos óleos.

**Hipótese nula 6:** Não existir diferenças antifúngicas entre os diferentes fabricantes dos óleos.

**Hipótese nula 7:** A eficácia dos óleos essenciais é inferior a eficácia dos outros medicamentos intracanalares.

As várias hipóteses alternativas deste projeto correspondem ao facto de os óleos de mirra e de lavanda poderem ter uma atividade antibacteriana ou antifúngica.

**Hipótese alternativa 1:** O óleo de mirra tem uma atividade antibacteriana.

**Hipótese alternativa 2:** O óleo de mirra tem uma atividade antifúngica.

**Hipótese alternativa 3:** O óleo de lavanda tem uma atividade antibacteriana.

**Hipótese alternativa 4:** O óleo de lavanda tem uma atividade antifúngica.

**Hipótese alternativa 5:** Existir diferenças antibacterianas entre os diferentes fabricantes dos óleos.

**Hipótese alternativa 6:** Existir diferenças antifúngicas entre os diferentes fabricantes dos óleos.



**Hipótese alternativa 7:** A eficácia dos óleos essenciais é superior a eficácia dos outros medicamentos intracanalares.




### III. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 1. Produtos testados


Os óleos utilizados no estudo encontram-se na tabela 2.

Tabela 2. Materiais utilizados - Identificação dos óleos essenciais

Imagem	Nome do produto	Fabricante	Lote	Origem	Datas de validade	Tipo (T), quimio tipo (Q) e constituinte (C)
	Commiphora molmol - Myrrhe	Pranarom	0F006709	Não fornecido pelo fabricante	11/2027	T : oleoresina  Q : Curzereno furano cudesmaoliène  C : Não fornecido pelo fabricante
	Myrrhe-Huile essentielle bio	Ladrôme	L77E0139	Somália	02/2028	T : resina  Q : furano eudesma-1,3-dieno, curzereno, $\beta$ -elemeno  C : Óleo de Commiphora myrrha, limoneno, benzoato de benzilo

	<p>Mirra - Óleo essencial</p>	<p>Plena Natura</p>	<p>0013797</p>	<p>Somália</p>	<p>06/2025</p>	<p>T : Não fornecido pelo fabricante</p> <p>Q : Furanoeudesma-1,3-dieno, Furanodieno, Lindestreno, B-Elemeno, Germacreno B, Germacreno D, Delta-Elemeno, 2-Metoxi Furano Dieno</p> <p>C : Não fornecido pelo fabricante</p>
	<p>Lavandula angustifolia - Huile Essentielle de Lavande vraie</p>	<p>Pranarom</p>	<p>OF008969</p>	<p>França</p>	<p>08/2028</p>	<p>T : Não fornecido pelo fabricante</p> <p>Q : Não fornecido pelo fabricante</p> <p>C : Linalol, acetato de linalilo</p>
	<p>Lavande fine Huile essentielle bio</p>	<p>Ladrôme</p>	<p>L77K0111</p>	<p>França</p>	<p>07/2028</p>	<p>T : Topos floridos</p> <p>Q : acetato de linalilo, linalol, cis-<math>\beta</math> ocimeno</p> <p>C : Não fornecido pelo fabricante</p>



	<p>Óleo essencial de Lavanda Francesa</p>	<p>Plena Natura</p>	<p>0016765</p>	<p>França</p>	<p>10/2026</p>	<p>T : Não fornecido pelo fabricante</p> <p>Q : acetato de linalilo, linalol, cis-<math>\beta</math> ocimeno</p> <p>C : Não fornecido pelo fabricante</p>
<p><b>O tipo</b> de óleo essencial refere-se geralmente à planta de onde é extraído e a maneira de extração</p> <p><b>O quimiotipo</b> é a classificação de um óleo essencial de acordo com a predominância de determinados componentes químicos.</p> <p><b>Os constituintes</b> de um óleo essencial são as moléculas químicas que o compõem.</p>						

## 2. Estirpes de microrganismos utilizados

Foram utilizadas colónias de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e *Candida albicans* (ATCC 10231) pertencentes à microbioteca do Instituto Universitário Egas Moniz. As mesmas são armazenadas de acordo com as instruções do laboratório que as comercializa

### 3. Produtos de laboratório

Os reagentes e meios de culturas utilizados neste estudo encontram-se descritos na tabela 3.

**Tabela 3.** Reagentes e meios de cultura utilizados

<b>Produtos</b>	<b>Fonte</b>	...	
		<b>Produtos</b>	<b>Fonte</b>
Dimeilsulfoxido (DMSO), 99%	Sigma, Reino Unido		
Água destilada esteril (autoclavada)	Biokar diagnostics	Meio de crescimento TSA	Fornecido pelos laboratórios de Egas Moniz
Chlorhexidina 2%	Fornecido pelos laboratórios de Egas Moniz	Meio de crescimento Sabouraud	Fornecido pelos laboratórios de Egas Moniz
Digluconate de chlorhexidina	Cerkamed	Gelose de Mueller-Hinton agar	Fornecido pelos laboratórios de Egas Moniz
Ethanol absoluto	Carlo Erba Reagents	Gelose de RPMI*	Fornecido pelos laboratórios de Egas Moniz
Mistura de pó de hidróxido de cálcio e água destilada (concentração final de 2g/ml)	Mistura efetuada no laboratório de microbiologia do Instituto Egas Moniz	Meio líquido de Mueller-Hinton agar	Fornecido pelos laboratórios de Egas Moniz
Hidróxido de cálcio	Ultracal XS	Meio líquido de RPMI	Fornecido pelos laboratórios de Egas Moniz

#### **4. A Questão PICOST (População, Intervenção , Comparação, Resultados, Desenho do Estudo e tempo)**

Este estudo permite, em primeiro lugar, responder à pergunta: As essências de Lavanda e Mirra têm um efeito antibacteriano ou antifúngico?

Em segundo lugar, verificar se uma das essências é mais eficaz, dependendo do seu fabricante.

##### População (P)

Na primeira fase (F1), foram definidos 6 grupos de estudo.

O ethanol, grupo de controlo positivo.

Os Óleos essenciais de Mirra e Lavanda, que correspondem aos óleos que queremos testar.

A clorexidina, o digluconato de clorexidina e o hidróxido de cálcio, correspondem aos medicamentos intracanal testados.

Na segunda fase (F2), foram definidos 7 grupos de estudo.

Um grupo de controlo, o Fluconazol para *C.albicans* e a Ampicilina para *E.faecalis*.

Os oleos de mirra, que incluem PNM (Pleno Natura Mirra), PM (Pranarom Mirra) e LM (Ladrome Mirra).

Os oleos de lavanda, que incluem PNL (Pleno Natura Lavanda), PL (Pranarom Lavanda) e LL (Ladrome Lavanda)

##### Intervenção (I)

Em F1, Avaliar a atividade antibacteriana ou antifúngica em *C.albicans* e *E.faecalis* dos óleos essenciais e dos medicamentos intracanal.

Em F2, Avaliar qual dos óleos essenciais têm uma maior capacidade antibacteriana ou antifúngica em *C.albicans* e *E.faecalis*

##### Comparação (C)

Em F1, Comparar a atividade antibacteriana ou antifúngica em *C.albicans* e *E.faecalis* dos óleos essenciais com a atividade antibacteriana ou antifúngica dos medicamentos intracanal.

Em F2, Comparar a atividade antibacteriana ou antifúngica em *C.albicans* e *E.faecalis* dos óleos essenciais de mirra com os óleos essenciais de lavanda.

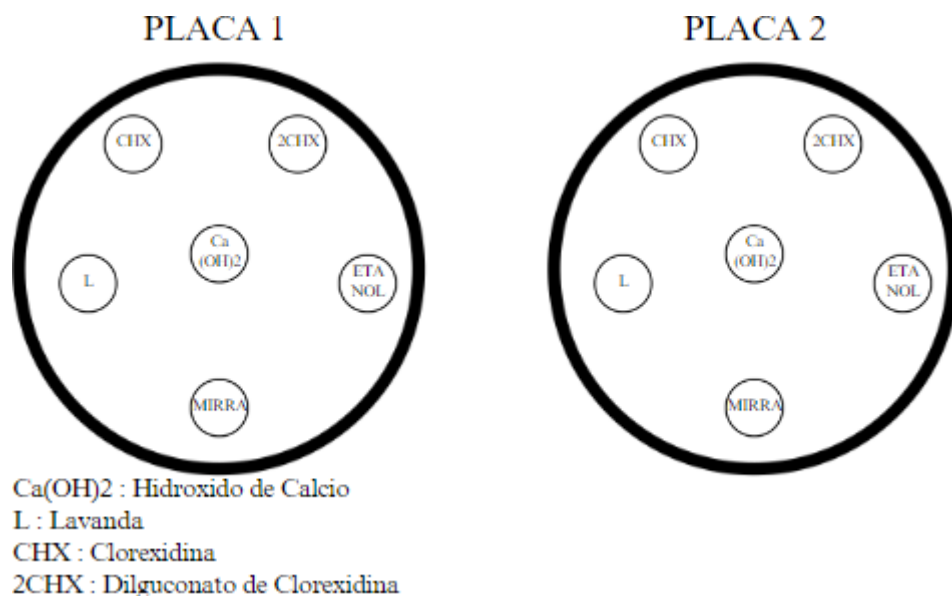
### Resultados (O)

Na primeira fase, aparecimento de halo de inibição do crescimento com morte ou inibição bacteriana ou fúngica. Em caso de não aparecimento de halo, considerar que o produto não tem capacidade antifúngica ou antibacteriana.

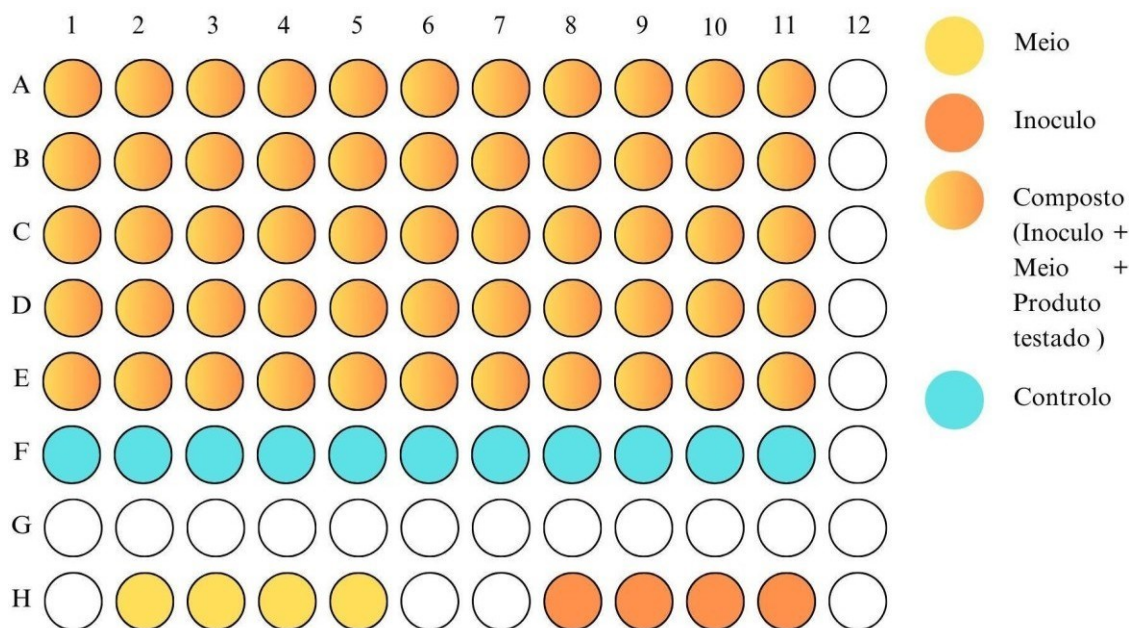
Na segunda fase, leitura dos resultados com o Tecan e avaliar a concentração mínima inibitória de cada óleo e compará-los.

### Desenho do Estudo (S)

A distribuição dos produtos a testar e dos controlos colocados nos meios de cultura, nos dois ensaios efetuados, pode ser observada nas figuras 3 e 4.



**Figura 3** : Esquematização do método de difusão com discos em agar para verificar a atividade antibacteriana e antifúngica dos óleos essenciais em *C.albicans* (Placa 1) e *E.faecalis* (Placa 2) (De autoria própria)



**Figura 4 :** Esquemática de uma placa permitindo avaliar a CMI. Cada coluna tendo uma concentração diferente e cada linha tendo um produto testado diferente (De autoria própria)

#### Tempo (T)

Na fase 1, após a incubação de 24h, verifica-se-à ou não a presença de um halo de inibição do crescimento.

Na segunda fase, após a incubação de 24h, as placas são lidas no TECAN (espectrofotômetro), ou seja, é medida a absorvância e determinada a concentração microbiana.

### **5. Método de difusão com discos em ágar (F1)**

Este método, descrito em 1966 no *The American Journal of Clinical Pathology*, envolve a imersão de uma quantidade definida do produto a ser testado em discos de papel. Os discos são primeiro colocados num meio de ágar impregnado com os microrganismos desejados em fase de crescimento exponencial. Os produtos depositados espalhar-se-ão pela superfície do ágar. Forma-se uma auréola à volta dos discos se o produto inibir a multiplicação ou o crescimento do microrganismo. No entanto, é importante notar que o halo não significa necessariamente a morte dos microrganismos. O método de difusão em disco não diferencia a capacidade bactericida ou fungicida, ou seja, a capacidade de matar os microrganismos, da capacidade bacteriostática ou fungistática, ou seja, a capacidade de impedir a proliferação dos microrganismos (Bauer et al., 1966; Balouiri et al., 2016).

### **Protocolo:**

Este protocolo foi efetuado numa câmara de segurança biológica ninoSAFE classe II.

#### Meios de crescimento

Durante este estudo experimental in vitro, os microrganismos *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* foram inicialmente inoculados em meios de crescimento. O meio *Tryptone Soya* (TSA) para *E. faecalis* e o meio *Sabouraud* para *C. albicans*. Os microrganismos foram incubados numa estufa VWR INCU-Line I 250R a 37°C durante 24 horas.

#### Preparação dos inóculos:

Os microrganismos foram inoculados com uma ansa descartável Deltalab estéril, em água destilada estéril. As suspensões foram então padronizadas a 1 na escala de McFarland para *E. faecalis* e 3 na escala de McFarland para *C. albicans* com uma margem de erro de 0,5 McF. As suspensões foram padronizadas com um densitômetro McFarland Den-1 da Grant-bio.

#### Inoculação das placas :

De seguida, aplicou-se o método de difusão em disco Kirby-Bauer. Os microrganismos foram colocados em ágar Mueller-Hinton para *E. faecalis* e RPMI para *C. albicans*, utilizando zaragatoas de algodão descartáveis Deltalab. As zaragatoas foram mergulhadas em cada uma das suspensões microbianas.

#### Colocação dos discos e dos produtos testados:

Utilizou-se uma caneta de acetato para marcar a futura posição dos diferentes discos na tampa das placas de Petri. Depois, com a ajuda de uma pinça, cada disco foi colocado suavemente, tendo o cuidado de não tocar nos meios de cultura. Os discos têm 6 mm de tamanho e são da marca Frilabo. Adicionaram-se 15 µl de cada óleo da marca Pranarom nos discos utilizando uma pipeta Frilabo P20. Adicionou-se também em discos clorexidina a 2%, digluconato de clorexidina a 2% (cerkamed), etanol e hidróxido de cálcio.

Os meios inoculados e com os produtos e controlos aplicados foram colocados na estufa a 37°C e os resultados foram lidos no dia seguinte.

Este protocolo foi efetuado em triplicado.

## **6. Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) (F2)**

A concentração mínima inibitória (CMI) é a menor concentração necessária para inibir o crescimento visível de um microrganismo após um período de incubação predeterminado, 24 horas nesta experiência. A CMI é uma medida chave utilizada em microbiologia para avaliar a eficácia dos antibióticos e outros agentes antimicrobianos contra microorganismos específicos. Esta medida é crucial para orientar a escolha terapêutica, permitindo aos clínicos prescrever doses apropriadas de medicamentos para tratar eficazmente as infeções, minimizando ao mesmo tempo o risco de desenvolvimento de resistências (CLSI, 2018).

### **Protocolo:**

Este protocolo foi efectuado numa câmara de segurança biológica ninoSAFE classe II.

Os compostos (diferentes óleos e controlos) foram colocados em pequenos tubos de ensaio de plástico, de modo a poderem ser misturados diretamente com o meio.

*Preparação dos compostos:* O objetivo era obter uma concentração final de 200 mg/150 ml de cada compostos (os óleos e controlos). Para este efeito, determinou-se a massa contida em 500 µl de cada óleo (m) utilizando uma balança analítica Sartorius de alta precisão.

Seguidamente estes foram diluídos em 500 µl de DMSO obtendo um volume final (ci) de 1 ml. As quantidades de composto (q) e de meio (qm) necessárias foram então determinadas através de uma regra de três simples (Tabela 4).

Para encontrar o qm, fizemos o calculo : 150 (a quantidade final) - a quantidade de composto (q).

**Tabela 4** : Quantidades de composto (q) e de meio (qm) utilizadas em µl

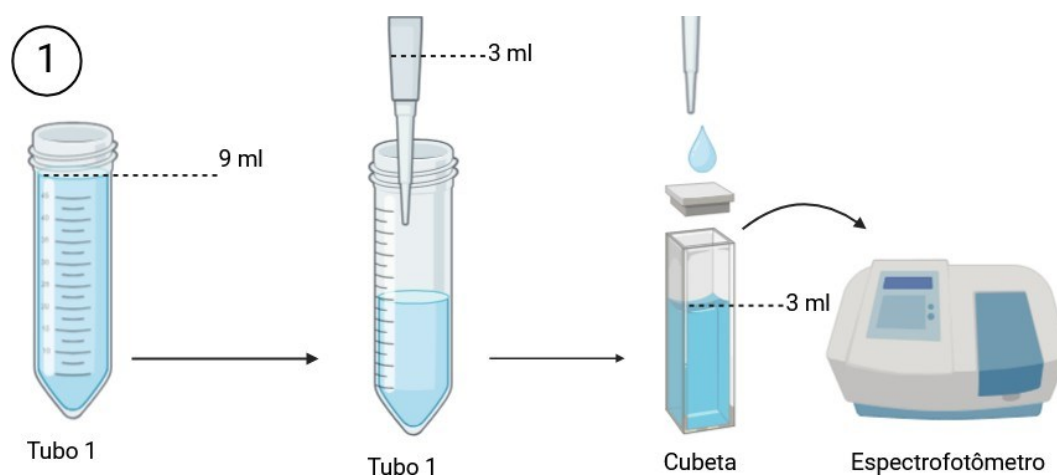
Compostos	Pleno natura	Ladrôme	Pranarom
Lavanda	$q_{\text{plena natura}} = 73,7 \mu\text{l}$ $q_{\text{m plena natura}} = 76,3 \mu\text{l}$	$q_{\text{ladrôme}} = 73,9 \mu\text{l}$ $q_{\text{m ladrôme}} = 76,1 \mu\text{l}$	$q_{\text{pranarom}} = 72,9 \mu\text{l}$ $q_{\text{m pranarom}} = 77,1 \mu\text{l}$
Mirra	$q_{\text{plena natura}} = 71,3 \mu\text{l}$ $q_{\text{m plena natura}} = 78,7 \mu\text{l}$	$q_{\text{ladrôme}} = 65 \mu\text{l}$ $q_{\text{m ladrôme}} = 85 \mu\text{l}$	$q_{\text{pranarom}} = 59,2 \mu\text{l}$ $q_{\text{m pranarom}} = 90,8 \mu\text{l}$

*Preparação dos inóculos:* Um inóculo é uma pequena quantidade de microrganismos introduzida num meio para desencadear o seu crescimento. A sua quantidade é padronizada para garantir que as variações da CMI se devem apenas ao efeito do agente testado.

Foram preparados em três fases principais: o branco do espectrofotómetro, a solução com microrganismos e a diluição da solução 1:10.

Para a preparação do inóculo, os meios utilizados foram o RPMI líquido e o Muller-Hinton líquido. As leituras do espectrofotómetro variaram entre 0,095 e 0,110 nm, em conformidade com as normas EUCAST.

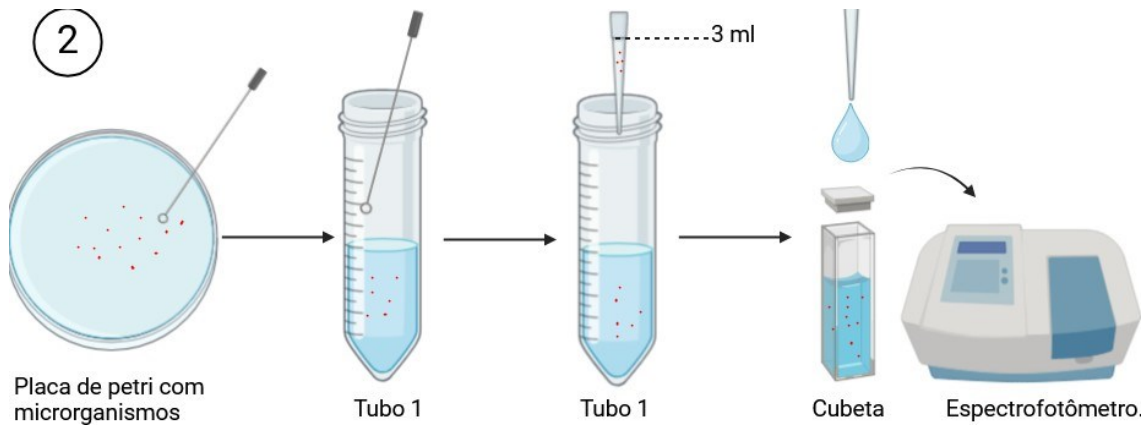
Para as leituras do Branco foram utilizados os meios RPMI (que se utiliza para o crescimento de *Candida*) e Mueller-Hinton (que se utiliza para o crescimento de *E.faecalis*). Os brancos serviram para calibrar o espetofotómetro (figura 5).



**Figura 5:** Preparação e leitura dos brancos (De autoria própria)

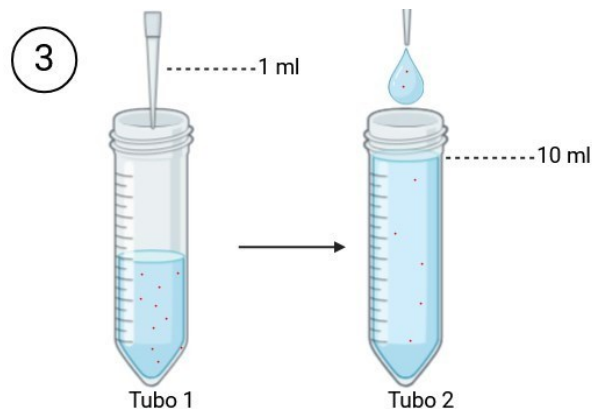


De seguida, utilizando uma ansa descartável, foram inoculados os microrganismos nos respectivos meios e foram medidas as absorvâncias (Figura 6).



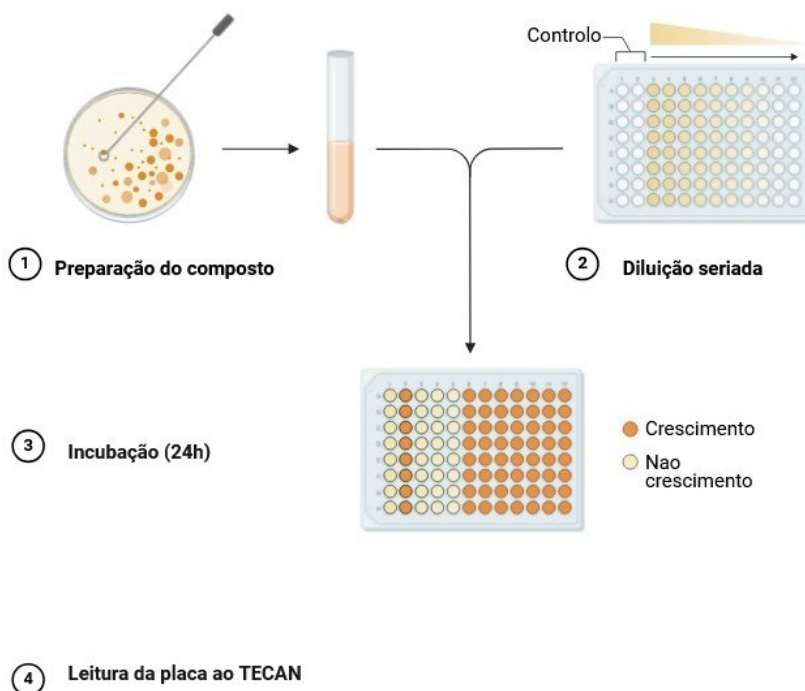
**Figura 6:** Preparação das suspensões microbianas (De autoria própria)

Após garantir que a suspensão foi padronizada 0,095 e 0,110 nm, foi transferido 1ml para um novo tubo contendo 9 ml de meio, obtendo assim uma diluição de 1/10 (figura 7).



**Figura 7:** Preparação das diluições 1:10 (De autoria própria)

*Preparação da placa:* A placa utilizada para fazer as leituras das absorvâncias foi preparada como se pode observar na figura 8.



**Figura 8 :** Diagrama esquemático da preparação da placa de 96 poços para determinação das CMI (De autoria própria)

Os compostos foram preparados (etapa 1) e colocados na primeira coluna com uma concentração de 100 mg/ml. Na restante da placa foram dispensados 50 µl de meio em todas as colunas, assim como nossos controles (um controle de meio, um controle do inoculo e um controle antibacteriano (Ampicilina) ou antifúngico (Fluconazol)). Em seguida, foram realizadas diluições seriadas diminuindo assim a concentração pela metade em cada coluna. (etapa 2).

A placa é a seguir, incubada por 24 horas em numa estufa a 37 °C para permitir o crescimento dos microrganismos (etapa 3).

A leitura da placa é feita no espectrofotômetro TECAN (etapa 4).

As concentrações utilizadas nas placas são apresentadas na figura 9.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	100,000	50,000	25,000	12,500	6,250	3,125	1,563	0,781	0,391	0,195	0,976	Composto Meio
B	100,000	50,000	25,000	12,500	6,250	3,125	1,563	0,781	0,391	0,195	0,976	Composto Meio
C	100,000	50,000	25,000	12,500	6,250	3,125	1,563	0,781	0,391	0,195	0,976	Composto Meio
D	128,000	64,000	32,000	16,000	8,000	4,000	2,000	1,000	0,500	0,250	0,130	Composto Meio
E	Controle	Controle	Controle	Controle	Controle	Controle	Controle	Controle	Controle	Controle	Controle	
F												
G		Meio	Meio	Meio	Meio			Inoculum	Inoculum	Inoculum	Inoculum	
H												

**Figura 9:** Concentrações de compostos em cada poço em mg/ml - Inoculo : *E.faecalis* ou *C.albicans* - Controle : Fluconazol ou Ampicillina - (De autoria própria)



## IV. RESULTADOS

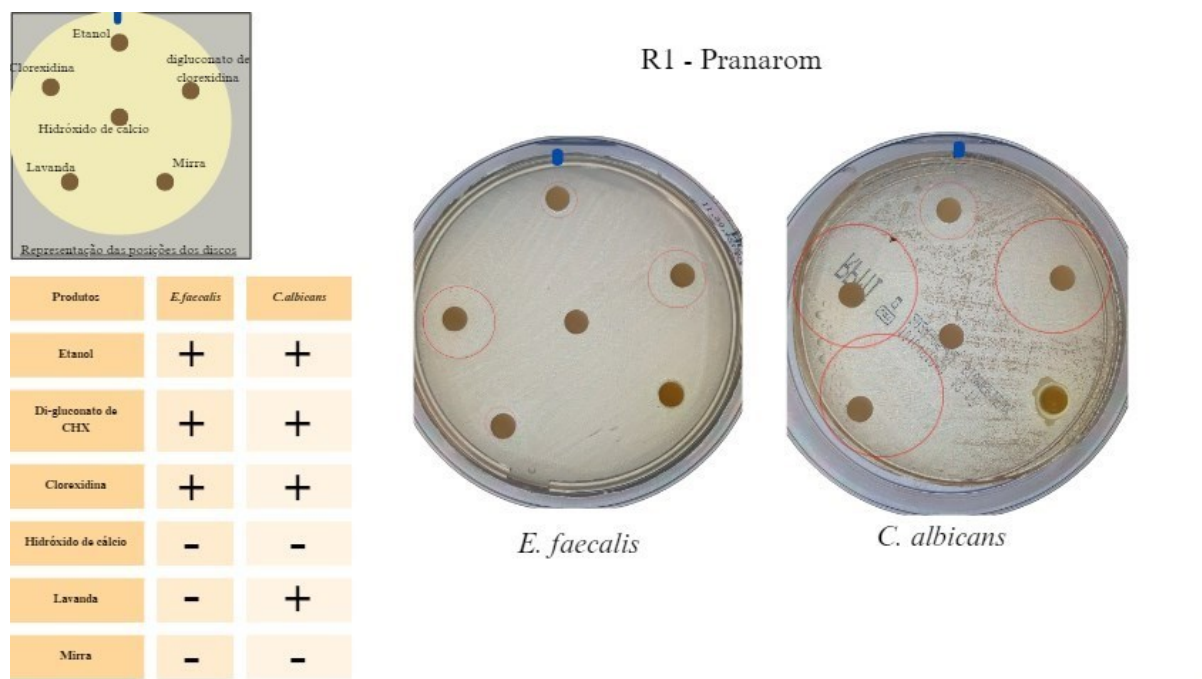
### 1. RESULTADOS DO MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR NA BACTÉRIA *E. faecalis*

O objetivo deste teste foi verificar se havia algum efeito da mirra ou da lavanda na bactéria *E. faecalis*, ou seja, verificar as hipóteses nulas 1 e 3.

Os resultados podem ser lidos visualmente, a olho nu (Figura 10, tabela anexo).

Foi assinalado com + os discos onde houve efeito, ou seja, um halo presente ao redor do disco.

Foi assinalado com - os discos onde não houve efeito, ou seja, ausência de halo.



**Figura 10:** Leitura do halo numa placa de Petri (Teste 1 do Pranarom) - Os + representam os discos onde houve efeito e os - os discos onde não houve efeito

**Tabela 5** - Resultados obtidos no ensaio de difusão em agar com *E.faecalis*

Discos	Clorexidina	Hidróxido de cálcio	Digluconato de CHX	Etanol	Mirra	Lavanda			
Test 1	+	-	+	+	-	-			
Test 2	+	-	+	+	-	-			
Test 3	+	-	+	+	-	-			
Test 1	+	-	+	+	-	+			
Test 2	+	-	+	+	-	+			
Test 3	+	-	+	+	-	+			
Test 1	+	-	+	+	-	+			
Test 2	+	-	+	+	-	+			
Test 3	+	-	+	+	-	+			
+ representem os discos onde houve efeito - representem os discos onde não houve efeito			Marcas : <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td>PRANAROM</td> <td>PLENO NATURA</td> <td>LADROME</td> </tr> </table>				PRANAROM	PLENO NATURA	LADROME
PRANAROM	PLENO NATURA	LADROME							

Pode-se ver que o etanol, que atua como controlo, tem um efeito antimicrobiano.

A clorexidina e o digluconato de clorexidina, bem como a lavanda, também inibiram o crescimento microbiano.

No entanto, em nenhum dos triplicados se observou um halo de inibição com a mirra.

Foi possível observar diferentes tamanhos de halos de inibição, sendo os halos de clorexidina os maiores e os halos de lavanda os mais pequenos.

## 2 . RESULTADOS DO MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR NO FUNGO *C. albicans*

O objetivo deste teste foi verificar se havia algum efeito da mirra ou da lavanda no fungo *C. albicans*, ou seja, verificar as hipóteses nulas 2 e 4.

Os resultados podem ser lidos visualmente, a olho nu (figura 10 e tabela 6).

Foi assinalado com + os discos onde houve efeito, ou seja, um halo presente ao redor do disco.

Foi assinalado com - os discos onde não houve efeito, ou seja, ausência de halo.

**Tabela 6** - Resultados obtidos no ensaio de difusão em agar com *C. albicans*

Discos	Mirra	Lavanda	Clorexidina	Hidroxido de calcio	Digluconate de CHX	Etanol
Test 1	-	+	+	-	+	+
Test 2	+	+	+	-	+	+
Test 3	+	+	+	+	+	+
Test 1	+	+	+	-	+	+
Test 2	-	+	+	-	+	+
Test 3	+	+	+	-	+	+
Test 1	+	+	+	-	+	+
Test 2	+	+	+	-	+	+
Test 3	+	+	+	-	+	+
Marcas :			+ representem os discos onde houve efeito			
Pranarom	Pleno Natura	Ladrome	- representem os discos onde não houve efeito			

Pode-se ver que o etanol, que atua como controlo, tem um efeito antimicrobiano.

A clorexidina e o digluconato de clorexidina, a lavanda e a mirra também inibiram o crescimento microbiano.

Foi possível observar diferentes tamanhos de halos de inibição, sendo os halos de clorexidina os maiores e os halos de lavanda os mais pequenos.

### 3 . RESULTADOS DA CMI COM *E. faecalis*

Os resultados da CMI são lidos no espectofotômetro TECAN Infinite com estes parâmetros (tabela 7):

**Tabela 7:** Parâmetros do TECAN usados na leitura das placas

Mode	Absorbance
Measurement Wavelength	600 nm
Bandwidth	9 nm
Number of Flashes	25
Settle Time	0 ms

Após as leituras é gerado um documento Excel e os resultados foram interpretados usando a fórmula fornecida pela EUCAST (2023):

$$50\% \text{ OD endpoint determination: } (((\text{mean OD-PG}) - (\text{OD-NG})) * 0.5) + \text{NG})$$

Esta fórmula permite determinar o limiar onde ocorre a transição do efeito para o não efeito. Em seguida, sabendo qual concentração foi utilizada nesse ponto, obtemos a CMI (Concentração Mínima Inibitória) (tabela 8).



**Tabela 8-** Resultados com *Enterococcus faecalis* (CMI em mg/ml)

<b>CMI determinada</b>	<b>PNL</b>	<b>LL</b>	<b>PL</b>	<b>PNM</b>	<b>LM</b>	<b>PM</b>
<b>Média dos resultados da amostra 1</b>	50mg/ml	100mg/ml	100mg/ml	sem efeito*	100mg/ml	100mg/ml
<b>Média dos resultados da amostra 2</b>	50mg/ml	100mg/ml	100mg/ml	sem efeito*	100mg/ml	100mg/ml
<b>Média dos resultados da amostra 3</b>	50mg/ml	sem efeito	100mg/ml	sem efeito*	100mg/ml	100mg/ml
<b>Média dos resultados totais</b>	<b>50mg/ml</b>	<b>100mg/ml</b>	<b>100mg/ml</b>	<b>sem efeito*</b>	<b>100mg/ml</b>	<b>100mg/ml</b>
PNL - Plena natura Lavanda LL - Ladrôme Lavanda PL - Pranarom Lavanda				PNM -Pleno natura Mirra LM-Ladrôme Mirra PM - Pranarom Mirra		
*É considerado sem efeito, o não crescimento de microrganismo na concentração de 100 mg /ml						

#### 4 . RESULTADOS DA CMI COM *C. albicans*

As CMIs para *C.albicans* foram determinadas utilizando a mesma fórmula descrita para *E. faecalis*. Os resultados estão apresentados na tabela 9.

**Tabela 9** :Resultados com *Candida albicans* (CMI em mg/ml)

<b>CMI determinada</b>	<b>PNL</b>	<b>LL</b>	<b>PL</b>	<b>PNM</b>	<b>LM</b>	<b>PM</b>
<b>Média dos resultados da amostra 1</b>	sem efeito*	sem efeito*	sem efeito*	sem efeito*	100mg/ml	12,5mg/ml
<b>Média dos resultados da amostra 2</b>	0,2 mg /ml	0,8 mg/ml	0,4mg/ml	sem efeito*	3,1mg/ml	25mg/ml
<b>Média dos resultados da amostra 3</b>	sem efeito*	0,4 mg/ml	0,4 mg/ml	sem efeito*	1,6 mg/ml	12,5 mg/ml
<b>Média dos resultados totais</b>	<b>sem efeito*</b>	<b>0,6 mg/ml</b>	<b>0,4 mg/ml</b>	<b>sem efeito*</b>	<b>2,3 mg /ml</b>	<b>12,9 mg/ml</b>
PNL - Plena natura Lavanda LL - Ladrôme Lavanda PL - Pranarom Lavanda				PNM -Pleno natura Mirra LM-Ladrôme Mirra PM - Pranarom Mirra		
*É considerado sem efeito, o não crescimento de microrganismo na concentração de 100 mg /ml						

Pode observar-se que as CMI determinadas para *E. faecalis* e *C. albicans* são elevadas.

No caso de *E. faecalis*, a maioria dos valores registados foram em concentrações de 100 g/ml. Isto sugere que a mirra e a lavanda não são agentes antimicrobianos muito eficazes e que a sua utilização pode ser limitada por problemas de toxicidade e viabilidade clínica.

No entanto, a lavanda da marca Pleno Natura tem um valor de concentração mais baixo (50 mg/ml). Por conseguinte, é mais eficaz do que os outros óleos contra *E. faecalis*, mas é também muito limitada.

No que respeita *C. albicans*, os resultados são mais díspares.

Os óleos das marcas Pleno Natura não têm qualquer efeito.

No que diz respeito à lavanda, as CMI apresentadas são relativamente baixas, o que indica uma eficácia bastante boa. No entanto, os resultados da primeira amostra mostram o contrário, deixando uma dúvida sobre a interpretação. Esta discrepância pode ser causada por vários fatores como erros de manipulação ou contaminação do meio.

Quanto à mirra, com um resultado de 16,6 mg/ml, o óleo essencial da marca Pranarom sugere uma atividade antimicrobiana bastante média.

Por fim, a concentração de mirra da marca Ladrôme é ainda demasiado elevada para ser suficientemente eficaz (36,6 mg/ml).

No entanto, existem diferenças significativas entre a primeira amostra e as outras duas.



## V. DISCUSSÃO

Os resultados dos nossos estudos confirmam que os óleos essenciais de lavanda e mirra têm propriedades antimicrobianas e antifúngicas, embora a sua eficácia seja inferior à de outros agentes utilizados mais convencionalmente em endodontia.

O método de difusão em disco demonstrou ser eficaz para testes antifúngicos e antibacterianos, além de oferecer uma abordagem simples que é amplamente utilizada no laboratório. Embora alguns estudos, como o de Golus et al (2023), sugiram que este método pode ser ligeiramente menos sensível do que a microdiluição, continua a ser uma ferramenta fiável para demonstrar a atividade (ou falta de atividade) do produto testado contra diferentes agentes patogénicos. O método de difusão em disco é um excelente ponto de partida para testar a eficácia dos óleos essenciais, embora possa ser complementado por métodos mais precisos, dependendo das necessidades específicas. No nosso caso, utilizamos o método de microdiluição em poços múltiplos, que permite determinar a CMI utilizando placas de 96 poços. Esta técnica já demonstrou a sua eficácia em vários estudos utilizando diferentes óleos essenciais contra *E.faecalis* (Liu et al., 2020).

Os óleos essenciais de lavanda testados mostraram atividade antimicrobiana e antifúngica, como evidenciado pela formação de halos de inibição de crescimento em placas inoculadas com *E.faecalis* e *C.albicans* nos testes de difusão em disco. Os óleos essenciais de mirra, mostraram atividade somente contra *C.albicans*. Deve-se notar também que a formação de um halo de inibição não significa necessariamente a morte bacteriana, pois este teste não distingue entre efeitos bacteriostáticos e bactericidas (Balouiri et al., 2016).

No que diz respeito à CMI determinada pelo teste de poços múltiplos, os nossos resultados mostraram uma baixa eficácia dos óleos essenciais testados.

Para os óleos de lavanda contra *C.albicans*, as CMIs medidas foram 0,4 mg/ml (0,10% (v/v)) para PL, 0,6 mg/ml (0,15% (v/v)) para LL e nenhum efeito para PNL testado a uma concentração máxima de 100mg/ml (24,57% (v/v)).

Para a mirra, as CMI foram de 2,3 mg/ml (0,55% (v/v)) para LM, 12,9 mg/ml (2,80% (v/v)) para PM e nenhum efeito para PNM na concentração máxima testada de 100mg/ml (19,72% (v/v)).

No estudo de D'Auria e colaboradores (2005), o óleo essencial de lavanda mostrou resultados diferentes dependendo da estirpe de *Candida* utilizada, com CMI's que variam de 0,69% (v/v) para estirpes vaginais a 1,04% (v/v) para estirpes da orofaringe (D'Auria et al., 2005). Por outro lado, o estudo exaustivo de 80 óleos essenciais diferentes efectuado por Serra e colaboradores (2018) indica que as CMI's de outros óleos também testados contra a *C. albicans* variam entre 0,06% (v/v) e 0,40% (v/v) (Serra et al., 2018). Os óleos de lavanda e mirra apresentam resultados consistentes com eficácia moderada contra fungos.

Contra *E.faecalis*, as CMI's medidas nos óleos essenciais de lavanda foram 50mg/ml (12,29% (v/v)) para PNL, 100 mg/ml para PL (24,31% (v/v)) e LL (24,62% (v/v)).

Relativamente aos óleos essenciais de mirra, para o PNM, não foi observado qualquer efeito na concentração máxima testada de 100mg/ml (19,72% (v/v)). No entanto, para o PM (26,69% (v/v)) e LM (23,75% (v/v)) a CMI medida foi de 100mg/ml.

Al-Madi e colaboradores (2019) também verificaram que a mirra teve um efeito inibitório equivalente ao nosso contra *E.faecalis* com uma CMI de 30mg/300µl. É de notar que nesse estudo, a mirra utilizada foi extraída diretamente no laboratório, em vez de utilizar produtos comerciais como no nosso caso (Al Madi et al., 2019). De Rapper et al (2013) também encontraram CMI's diferentes das nossas, com uma CMI de 2mg/ml para a lavanda.

As diferenças observadas entre os óleos do nosso estudo e os de Serra et al. (2018), Al-Madi et al. (2019) e Rapper e colaboradores (2013) podem ser explicadas por vários factores, nomeadamente diferenças no método de extração dos óleos, na própria espécie e nas condições ambientais em que foram colhidos, que podem modificar as composições químicas. Por exemplo, foi demonstrado que a composição química dos óleos essenciais de limão influencia o seu potencial antifúngico contra diferentes estirpes de *Candida* (Bialon et al., 2014).

No que diz respeito ao hidróxido de cálcio, observamos uma certa falta de eficácia (não ocorreu nenhum halos de inibição), em conformidade com a literatura existente (Lima et al., 2015).

A clorexidina, utilizada como agente de referência neste estudo, apresentou halos de inibição muito maiores do que os produzidos pelos óleos essenciais testados neste estudo. Estes resultados são consistentes com estudos anteriores (Rajendiran et al., 2021) que indicam que a clorexidina tem uma atividade antibacteriana e antifúngica mais potente do que a maioria dos óleos essenciais.

Embora a nossa experiência tenha mostrado uma baixa eficácia da mirra contra *E.faecalis* e *C.albicans*, é importante notar que alguns estudos mostram que a mirra é eficaz contra outros agentes patogénicos orais e, portanto, possivelmente um agente antibacteriano contra a cárie ou a doença periodontal (Izzeldien et al., 2020).

Além disso, estudos demonstram que a mirra pode potencialmente atuar em sinergia com agentes antimicrobianos como a clorexidina, aumentando a eficácia destes últimos (Lisa et al., 2017). Esta combinação pode ser uma solução promissora, sobretudo face ao aumento da resistência aos antibióticos.

*Limitações da experiência e perspectivas para o futuro:*

É de salientar que, existem muito poucos estudos sobre o tema deste estudo e os resultados continuam a ser bastante variados. É também um estudo que poderia ser prosseguido com um maior número de amostras e de testes, a fim de validar os resultados obtidos e reforçar as conclusões tiradas.

Consoante aos limitações da experiência, podemos também assinalar a falta de experiência do investigador .





## VI- CONCLUSÃO

No fim deste estudo e atendendo as suas limitações, podemos chegar a conclusão que :

A mirra não teve efeito contra *E.faecalis* (Hipótese nula 1) e teve efeito contra *C.albicans* (Hipótese alternativa 4).

A lavanda teve efeito sobre *E.faecalis* (Hipótese alternativa 3) e *C.albicans* (Hipótese alternativa 4)

Pudemos também observar diferenças de efeitos entre os diferentes fabricantes. Nomeadamente, A Pleno Natura, que mostrou efeitos contrários as marcas Ladrome e Pranarom (Hipótese alternativa 5).

Por fim, nos resultados do teste de difusão em agar confirmamos a hipótese nula 7, os óleos essenciais ficando com um halo de inibição menor a chlorhexidina e digluconate de chlorhexidina e a hipótese alternativa 7, sendo que o hidróxido de cálcio não teve nenhum halo de inibição

Este estudo destaca a importância de continuar a explorar as aplicações dos óleos essenciais na endodontia. Embora as suas propriedades naturais e potenciais benefícios, a sua utilização como tratamento primário requer mais evidências científicas e estudos clínicos aprofundados. Os óleos essenciais podem, no entanto, ser uma alternativa complementar interessante como parte de estratégias integradas de tratamento endodôntico com o objetivo de maximizar a eficácia, minimizando os efeitos secundários e a resistência microbiana.



## BIBLIOGRAFIA

- Ahmed, H. M. A., El-Karim, I., Duncan, H. F., Krastl, G., & Galler, K. (2023). Implications of root, pulp chamber, and canal anatomy on pulpotomy and revitalization procedures. *Clinical Oral Investigations*, 27(11), 6357-6369. <https://doi.org/10.1007/s00784-023-05284-9>
- Al-Fouzan, K. S. (2014). A New Classification of Endodontic-Periodontal Lesions. *International Journal Of Dentistry*, 2014, 1-5. <https://doi.org/10.1155/2014/919173>
- Alamoudi, R. A., Alharbi, A. H., Farie, G. A., & Fahim, O. (2019). The value of assessing case difficulty and its effect on endodontic iatrogenic errors : a retrospective cross-sectional study. *Libyan Journal Of Medicine*, 15(1), 1688916. <https://doi.org/10.1080/19932820.2019.1688916>
- Alberti, A., Corbella, S., Taschieri, S., Francetti, L., Fakhrudin, K.S & Samaranayake, LP. (2021). *Fungal species in endodontic infections : a systematic review and meta-analysis*. *Plos one*, 16(7), e0255003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255003>
- Al-Madi, E. M., Almohaimede, A. A., Al-Obaida, M. I., & Awaad, A. S. (2019). Comparison of the Antibacterial Efficacy of Commiphora molmoland Sodium Hypochlorite as Root Canal Irrigants against Enterococcus faecalis and Fusobacterium nucleatum. Evidence-based Complementary And Alternative Medicine, 2019, 1-6. <https://doi.org/10.1155/2019/6916795>
- Alshanta, O. A., Shaban, S., Nile, C.J., Mclean, W., Ramage, G., (2019). Candida albicans Biofilm heterogeneity and Tolerance of Clinical Isolates: Implications for Secondary Endodontics Infections. *Antibiotics*. 8(4):204. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040204>
- American Association of Endodontists. (2009). Taking the Pain out of Restorative Dentistry and Endodontics: Current Thoughts and Treatment Options to Help Patients Achieve Profound Anesthesia. *Endodontics : colleagues for excellence*
- American Association of Endodontists. (2013). Endodontic diagnosis. *Endodontics : colleagues for excellence* (10th ed.)

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>

Bansal, S., Tewari, S., Tewari, S., & Sangwan, P. (2018). The effect of endodontic treatment using different intracanal medicaments on periodontal attachment level in concurrent endodontic-periodontal lesions: a randomized controlled trial. *Journal of Conservative Dentistry*, 21(4), 413. [https://doi.org/10.4103/jcd.jcd\\_337\\_17](https://doi.org/10.4103/jcd.jcd_337_17)

Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., Turck, M. (1966). Antibiotic Susceptibility testing by a standardized single disk method. *The American Journal of Clinical Pathology*, 45(4) The Williams & Wilkins Co.

Beniash, E., Stifler, C. A., Sun, C., Jung, G. S., Qin, Z., Buehler, M. J., & Gilbert, P. U. P. A. (2019). The hidden structure of human enamel. *Nature Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12185-7>

Białoń, M., Krzyśko-Łupicka, T., Koszałkowska, M., & Wieczorek, P. P. (2014). The Influence of Chemical Composition of Commercial Lemon Essential Oils on the Growth of Candida Strains. *Mycopathologia*, 177(1-2), 29-39. <https://doi.org/10.1007/s11046-013-9723-3>

Black, G.V. (1902). *Descriptive Anatomy of the Human Teeth* (4th ed.), S.S. White Dental Manufacturing Company

Boutsioukis, C., & Arias-Moliz, M. T. (2022). Present status and future directions – irrigants and irrigation methods. *International Endodontic Journal*, 55(S3), 588-612. <https://doi.org/10.1111/iej.13739>

Clauder, T. (2022). Present status and future directions – Managing perforations. *International Endodontic Journal*, 55(S4), 872-891. <https://doi.org/10.1111/iej.13748>

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2018). *M07 Methods for dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. (11th ed.)

Couic-Marinier, F., Lobstein, A. (2013). Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(525), 22-25. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2013.02.006>

D'Auria, F. D., Tecca, M., Strippoli, V., Salvatore, G., Battinelli, L., & Mazzanti, G. (2005). Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. *Medical Mycology*, 43(5), 391-396. <https://doi.org/10.1080/13693780400004810>

De Rapper, S., Kamatou, G., Viljoen, A., & Van Vuuren, S. (2013). The In Vitro Antimicrobial Activity of *Lavandula angustifolia* Essential Oil in Combination with Other Aroma-Therapeutic Oils. *Evidence-based Complementary And Alternative Medicine*, 2013, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2013/852049>

De Sousa, D. P., Damasceno, R. O. S., Amorati, R., Elshabrawy, H. A., De Castro, R. D., Bezerra, D. P., Nunes, V. R. V., Gomes, R. C., & Lima, T. C. (2023). Essential Oils : Chemistry and Pharmacological Activities. *Biomolecules*, 13(7), 1144. <https://doi.org/10.3390/biom13071144>

DiAngelis, A. J., Andreasen, J. O., Ebeleseder, K. A., Kenny, D. J., Trope, M., Sigurdsson, A., Andersson, L., Bourguignon, C., Flores, M. T., Hicks, M. L., Lenzi, A. R., Malmgren, B., Moule, A. J., Pohl, Y., & Tsukiboshi, M. (2012). 1. Fractures and luxations of permanent teeth. *International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries. Dental Traumatology*, 28(1), 2-12. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2011.01103.x>

El Ashry, E. S. H., Rashed, N., Salama, O. M., Saleh, A. (2003). Components, therapeutic value and uses of myrrh. *Die Pharmazie*. 58, 163–168.

Eleftheriadis, G. I., & Lambrianidis, T. (2005). Technical quality of root canal treatment and detection of iatrogenic errors in an undergraduate dental clinic. *International Endodontic Journal*, 38(10), 725-734. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2005.01008.x>

European Society of Endodontology. (2006). *Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology*. doi:10.1111/j.1365-2591.2006.01180.x

Evans, M., Baumgartner, J., Khemaleelakul, S., & Xia, T. (2003). Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. *Journal of Endodontics*, 29(5), 338-339. <https://doi.org/10.1097/00004770-200305000-00005>

Featherstone, J. (2008). Dental caries : a dynamic disease process. *Australian Dental Journal*, 53(3), 286-291. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2008.00064.x>

Foster, B. L. (2017). On the discovery of cementum. *Journal of Periodontal Research*. 52(4),666-685. <https://doi.org/10.1111/jre.12444>

Fouad, A. F. (2019). Microbiological Aspects of Traumatic Injuries. *Journal Of Endodontics*, 45(12), S39-S48. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.05.011>

Giovanni,M, Daniela P., Giovanni L., Pio B., Maddalena M., (2018) *Prevalence of Candida Species in Endodontic Infections: Systematic review and met-analysis*, *Journal of Endodontics* , Volume 44, Issue 11, Pages 1616-1625.e9, ISSN 0099-2399, <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.07.016>.

Godoi-Jr, E. P., Bronzato, J. D., Francisco, P. A., Bicego-Pereira, E. C., Lopes, É. M., Passini, M. R. Z., De Jesus Soares, A., De Almeida, J. F. A., Marciano, M. A., Ferraz, C. C. R., & Gomes, B. P. F. A. (2023). Microbiological profile of root canals indicated for endodontic retreatment due to secondary endodontic infections or for prosthetic reasons. *Clinical Oral Investigations*, 27(5), 2049–2064. <https://doi.org/10.1007/s00784-023-04947-x>

Golus, J., Sawicki, R., Widelski, J., & Ginalska, G. (2016). The agar microdilution method - a new method for antimicrobial susceptibility testing for essential oils and plant extracts. *Journal Of Applied Microbiology*, 121(5), 1291-1299. <https://doi.org/10.1111/jam.13253>

Gomes, B., Souza, S., Ferraz, C., Teixeira, F., Zaia, A., Valdrighi, L., Souza-Filho, F. (2003). Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against enterococcus faecalis in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.*, 36(4):267-75. doi: 10.1046/j.1365-2591.2003.00634.x.

Gomes, B., Montagner, F., Berber, V., Zaia, A., Ferraz, C., Almeida, J., Souza-Filho, F. (2009). Antimicrobial action of intracanal medicaments on the external root surface. *Journal of Dentistry*, 37(1), 76-81. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2008.09.009>

Grace, K. (2000) Aromaterapia - Um guia de referência holístico para o uso terapêutico de óleos essenciais, *Medicina Natural*, Vida Editora

Graham, R. H., Torabinejad, M., (2014). The biology of dental pulp and periradicular tissues. in *Endodontics : Principles and practice*. (5th ed.), 1-21 , *Saunders, an imprint of Elsevier Inc.*

Grünwald, J., Jänicke, C., (2009) *A farmácia verde*. Everest editora

Gutmann, J. L., & Manjarrés, V. (2018). Historical and contemporary perspectives on the microbiological aspects of endodontics. *Dentistry Journal*. 6(4).

<https://doi.org/10.3390/dj6040049> \_

Hargreaves, K. M., Berman, L. H., Rotstein, I., & Cohen, S. S. (2020). *Cohen's Pathways of the Pulp* (12th ed.)

Heasman, P. A. (2014). An endodontic conundrum : the association between pulpal infection and periodontal disease. *British Dental Journal*, 216(6), 275-279.

<https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2014.199>

Hong, B., Lee, T. K., Lim, S. M., Chang, S. W., Park, J., Han, S. H., Zhu, Q., Safavi, K. E., Fouad, A. F., & Kum, K. (2013). Microbial Analysis in Primary and Persistent Endodontic Infections by Using Pyrosequencing. *Journal Of Endodontics*, 39(9), 1136-1140.

<https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.05.001>

Huang, D., Wang, X., Liang, J., Ling, J., Bian, Z., Yu, Q., Hou, B., Chen, X., Li, J., Ye, L., Cheng, L., Xu, X., Hu, T., Wu, H., Guo, B., Su, Q., Chen, Z., Qiu, L., Chen, W.,. . . Zhou, X. (2024). Expert consensus on difficulty assessment of endodontic therapy. *International Journal Of Oral Science*, 16(1). <https://doi.org/10.1038/s41368-024-00285-0>

Izzeldien, R., Abdulaziz, S., Ahmed, A., & Noma, M. (2020). In vitro Antibacterial effect of Commiphora myrrha Oil against Dental Pathogens. *bioRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)*. <https://doi.org/10.1101/2020.10.15.341180>

Jugreet, B. S., Suroowan, S., Rengasamy, R. K., & Mahomoodally, M. F. (2020). Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. *Trends In Food Science & Technology*, 101, 89-105. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.025>

Kim-Park, M. A., Baughan, L. W., & Hartwell, G. R. (2003). Working Length Determination in Palatal Roots of Maxillary Molars. *Journal Of Endodontics*, 29(1), 58-61. <https://doi.org/10.1097/00004770-200301000-00016>

Kulild, J. C., (2008). Diagnostic Testing. *Ingle's Endodontics 6*. BC Decker Inc.

Laske, M., Opdam, N., Bronkhorst, E. M., Braspenning, J., & Huysmans, M. (2019). Risk Factors for Dental Restoration Survival : A Practice-Based Study. *Journal Of Dental Research*, 98(4), 414-422. <https://doi.org/10.1177/0022034519827566>

Lee, Y., Liu, J., Clarkson, B. H., Lin, C., Godovikova, V., & Ritchie, H. H. (2006). Dentin-Pulp Complex Responses to Carious Lesions. *Caries Research*, 40(3), 256-264. <https://doi.org/10.1159/000092235>

Lehman, D., C., Marsik, F., J. (2019). Biofilms: Architects of Disease . *Textbook of diagnostic Microbiology* (6th Edition), Elsevier Inc.

Levin, L., Day, P. F., Hicks, L., O'Connell, A., Fouad, A. F., Bourguignon, C., & Abbott, P. V. (2020). International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries : General introduction. *Dental Traumatology*, 36(4), 309-313. <https://doi.org/10.1111/edt.12574>



Lima, S., Pádua, G., Sousa, M., Freire, M., Franco, O., & Rezende, T. (2015). Antimicrobial peptide-based treatment for endodontic infections — biotechnological innovation in endodontics. *Biotechnology Advances*, 33(1), 203-213.

<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.013>

Liu, F., Jin, P., Gong, H., Sun, Z., Du, L., & Wang, D. (2020). Antibacterial and antibiofilm activities of thyme oil against foodborne multiple antibiotics-resistant *Enterococcus faecalis*. *Poultry Science*, 99(10), 5127-5136. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.067>

Mahon, C., R., Manuselis, G., (2019) Bacterial Cell Structure, Physiology, Metabolism, and Genetics. *Textbook of diagnostic Microbiology* (6th ed.), Elsevier Inc.

Markowitz, K., Moynihan, M., Liu, M., Kim, S. (1992). Biologic properties of eugenol and zinc oxide--eugenol - A clinically oriented review. *Endodontics*.

[https://doi.org/10.1016/0030-4220\(92\)90020-Q](https://doi.org/10.1016/0030-4220(92)90020-Q)

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2005). *Medical Microbiology*. Mosby.

Napoli, E., & Di Vito, M. (2021). Toward a New Future for Essential Oils. *Antibiotics*, 10(2), 207. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020207>

Narayanan, L., & Vaishnavi, C. (2010). Endodontic microbiology. *Journal Of Conservative Dentistry*, 13(4), 233. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.73386>

Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451-1474.

<https://doi.org/10.3390/ph6121451>

Neelakantan, P., Vishwanath, V., Taschieri, S., & Corbella, S. (2022). Present status and future directions : Minimally invasive root canal preparation and periradicular surgery. *International Endodontic Journal*, 55(S4), 845-871. <https://doi.org/10.1111/iej.13750>

Neves, V., & Sharpe, P. (2017). Regulation of Reactionary Dentine Formation. *Journal Of Dental Research*, 97(4), 416-422. <https://doi.org/10.1177/0022034517743431>

Short-term vs long-term calcium hydroxide therapy after immediate tooth replantation: a histomorphometric study in monkey's teeth. *Dental Traumatology*, 28(3), 226-232.

<https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2011.01071.x>

Patel, S., & Hamer, S. (2021). A simple guide to using dental dam. *BDJ*, 230(10), 644-650.

<https://doi.org/10.1038/s41415-021-3016-x>

Pitts, N., Zero, D. T., Marsh, P., Ekstrand, K. R., Weintraub, J. A., Ramos-Gomez, F., . . . Ismail, A. I. (2017). Dental caries. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1).

<https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>

Rajendiran, M., Trivedi, H. M., Chen, D., Gajendrareddy, P., & Chen, L. (2021). Recent Development of Active Ingredients in Mouthwashes and Toothpastes for Periodontal Diseases. *Molecules*, 26(7), 2001. <https://doi.org/10.3390/molecules26072001>

Ramsey, J. T., Shropshire, B. C., Nagy, T. R., Chambers, K. D., Li, Y., & Korach, K. S. (2020). Focus: Plant-based medicine and pharmacology: Essential oils and health. *The Yale journal of biology and medicine*, 93(2), 291.

Ricucci, D., Siqueira, J. F., & Rôças, I. N. (2021). Pulp Response to Periodontal Disease : Novel Observations Help Clarify the Processes of Tissue Breakdown and Infection. *Journal Of Endodontics*, 47(5), 740-754. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2021.02.005>

Reyes-Jurado, F., Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N., Palou, E., & López-Malo, A. (2014). Essential Oils : Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and Their Modeling. *Food Engineering Reviews*, 7(3), 275-297. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9099-2>

Saito, M. M., Onuma, K., & Yamakoshi, Y. (2023). Cementum is key to periodontal tissue regeneration : A review on apatite microstructures for creation of novel cementum-based dental implants. *Genesis*, 61(3-4). <https://doi.org/10.1002/dvg.23514>

Schaechter, M. (2009). *Desk Encyclopedia of Microbiology*. Academic Press.

Scheid, R. C., Weiss, G. (2012) *Woelfel's Dental Anatomy*. (8th ed.) Philadelphia: Lippincott

Sen, H., B., Baksi B., G., (2017). Fungi in Endodontic Infection. *Endodontic Microbiology* (2th ed.)

Serra, E., Hidalgo-Bastida, L., Verran, J., Williams, D., & Malic, S. (2018). Antifungal Activity of Commercial Essential Oils and Biocides against *Candida Albicans*. *Pathogens*, 7(1), 15. <https://doi.org/10.3390/pathogens7010015>

Setzer, F. C., Lee, S.-M. (2021). *Radiology in Endodontics*. Dental Clinics of North America <https://doi.org/10.1016/j.cden.2021.02.004>

Siddiqui, Y., Omori, K., Ito, T., Yamashiro, K., Nakamura, S., Okamoto, K., ... & Takashiba, S. (2019). Resolvin d2 induces resolution of periapical inflammation and promotes healing of periapical lesions in rat periapical periodontitis. *Frontiers in Immunology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00307>

Signoretti, F. G., Endo, M. S., Gomes, B. P., Montagner, F., Tosello, F. B., & Jacinto, R. C. (2011). Persistent Extraradicular Infection in Root-filled Asymptomatic Human Tooth : Scanning Electron Microscopic Analysis and Microbial Investigation after Apical Microsurgery. *Journal Of Endodontics*, 37(12), 1696-1700. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.09.018>

Silva, S., Alves, N., Silva, P., Vieira, T., Maciel, P., Castellano, L., Albuquerque, D. (2019). Antibacterial activity of *rosmarinus officinalis*, *zingiber officinale*, *citrus aurantium bergamia*, and *copaifera officinalis* alone and in combination with calcium hydroxide against *enterococcus faecalis*. *Biomed Research International*, 2019, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2019/8129439>

Siqueira, J. F., Jr. , Fouad, A.F,(2009). Endodontic Microbiology. *Endodontics : principles and practice* (5th ed.). <http://ci.nii.ac.jp/ncid/BB15425536>

Siqueira, J. F. & Rôças, I. N. (2022). Present status and future directions: *Microbiology of endodontic infections*. *International Endodontic Journal*. <https://doi.org/10.1111/iej.13677>

Siu, S. Y., Pudipeddi, A., Vishwanath, V., Lee, A. H. C., Cheung, A. W. T., Cheung, G. S. P., & Neelakantan, P. (2024). Effect of Novel and Traditional Intracanal Medicaments on Biofilm Viability and Composition. *Journal Of Endodontics*.

<https://doi.org/10.1016/j.joen.2024.07.003>

Sivapathasundharam, B. (2020). *Shafer's Textbook of Oral Pathology e-book*. Elsevier Health Sciences.

Swamy, M. K., Akhtar, M. S., Sinniah, U. R. (2016). Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action : An Updated Review. *Evidence-based Complementary And Alternative Medicine, 2016*, 1-21.

<https://doi.org/10.1155/2016/3012462>

Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A. S., Shalla, A. H., & Rather, M. A. (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis, 134*, 103580.

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103580>

Tennert, C., Fuhrmann, M., Wittmer, A., Karygianni, L., Altenburger, M. J., Pelz, K., Hellwig, E., & Al-Ahmad, A. (2014). New Bacterial Composition in Primary and Persistent/Secondary Endodontic Infections with Respect to Clinical and Radiographic Findings. *Journal of Endodontics, 40*(5), 670–677. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.10.005>

Terauchi, Y., Ali, W. T., & Abielhassan, M. M. (2022). Present status and future directions : Removal of fractured instruments. *International Endodontic Journal, 55*(S3), 685-709.

<https://doi.org/10.1111/iej.13743>

Terlemez, A., Alan, R., & Gezgin, O. (2018). Evaluation of the Periodontal Disease Effect on Pulp Volume. *Journal Of Endodontics, 44*(1), 111-114.

<https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.09.005>

Thienngern, P., Panichuttra, A., Ratisoontorn, C., Aumnate, C., & Matangkasombut, O. (2022). Efficacy of chitosan paste as intracanal medication against enterococcus faecalis and

candida albicans biofilm compared with calcium hydroxide in an in vitro root canal infection model. *BMC Oral Health*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02385-x>

Tongnuanchan, P., Benjakul, S. (2014). Essential Oils : Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal Of Food Science*, 79(7). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12492>

Van de Sande, F. H., Collares, K., Corrêa, M. B., Cenci, M. S., Demarco, F. F., & Opdam, N. (2016). Restoration Survival : Revisiting Patients' Risk Factors Through a Systematic Literature Review. *Operative Dentistry*, 41(S7), S7-S26.

Versiani, M. A., Martins, J. N. R., & Ordinola-Zapata, R. (2023). Anatomical complexities affecting root canal preparation: a narrative review. *Australian dental journal*, 68, S5-S23.

Vertucci, F. J. (2005). Root canal morphology and its relationship to endodontic procedures. *Endodontic Topics*. 10(1), 3-29. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2005.00129.x>

Waltimo TM, Sirén EK, Orstavik D, Haapasalo MP. (1999) Susceptibility of oral Candida species to calcium hydroxide in vitro. *Int Endod J*.;32(2):94-8. doi: 10.1046/j.1365-2591.1999.00195.x.

WHO (World Health Organisation). (2017). Sugars and dental caries. *WHO technical information note*.

Zehnder, M. (2006). Root canal irrigants. *Journal Of Endodontics*, 32(5), 389-398. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.09.014>

Zhang, N., & Yao, L. (2019). Anxiolytic Effect of Essential Oils and Their Constituents : A Review. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 67(50), 13790-13808. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00433>



ANEXAS



Produtos	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
Etanol	+	+
Di-gluconato de CHX	+	+
Clorexidina	+	+
Hidróxido de cálcio	-	-
Lavanda	-	+
Mirra	-	-

R1 - Pranarom



*E. faecalis*

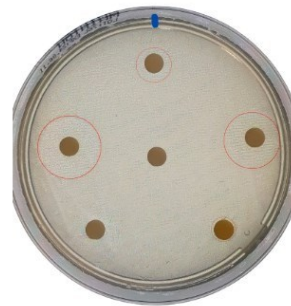


*C. albicans*



Produtos	<i>E. faecalis</i>	<i>Calbicans</i>
Etanol	+	+
Di-gluconato de CHX	+	+
Clorexidina	+	+
Hidróxido de cálcio	-	-
Lavanda	-	+
Mirra	-	+

R2 - Pranarom



*E. faecalis*

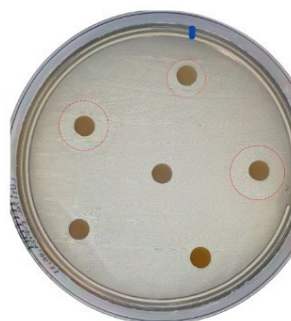


*C. albicans*



Produtos	<i>E. faecalis</i>	<i>Calbicans</i>
Etanol	+	+
Di-gluconato de CHX	+	+
Clorexidina	+	+
Hidróxido de cálcio	-	-
Lavanda	-	+
Mirra	-	+

R3 - Pranarom



*E. faecalis*



*C. albicans*

Annexa 1 : Resultados do método de difusão com discos em agar com os óleos de Pranarom



Produtos	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
Etanol	+	+
Di-gluconato de CHX	+	+
Clorexidina	+	+
Hidróxido de cálcio	-	-
Lavanda	+	+
Mirra	-	+

R1 - Ladrome



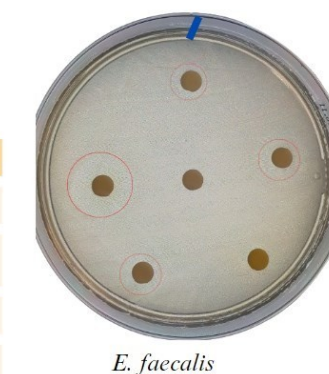
Produtos	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
Etanol	+	+
Di-gluconato de CHX	+	+
Clorexidina	+	+
Hidróxido de cálcio	-	-
Lavanda	-	+
Mirra	-	+

R2 - Ladrome



Produtos	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
Etanol	+	+
Di-gluconato de CHX	+	+
Clorexidina	+	+
Hidróxido de cálcio	-	-
Lavanda	+	+
Mirra	-	+

R3 - Ladrome



Annexa 2 : Resultados do método de difusão com discos em agar com os óleos de Ladrôme



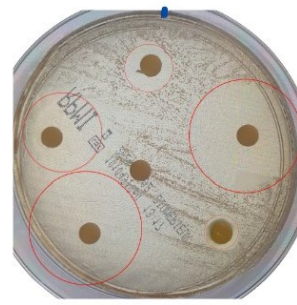


Produtos	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
Etanol	+	+
Di-gluconato de CHX	+	+
Clorexidina	+	+
Hidróxido de cálcio	-	-
Lavanda	+	+
Mirra	-	+

R1 - Pleno natura



*E. faecalis*



*C. albicans*



Produtos	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
Etanol	+	+
Di-gluconato de CHX	+	+
Clorexidina	+	+
Hidróxido de cálcio	-	-
Lavanda	+	+
Mirra	-	-

R2 - Pleno natura



*E. faecalis*

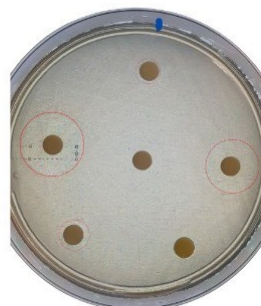


*C. albicans*



Produtos	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
Etanol	+	+
Di-gluconato de CHX	+	+
Clorexidina	+	+
Hidróxido de cálcio	-	-
Lavanda	+	+
Mirra	-	+

R3 - Pleno natura



*E. faecalis*



*C. albicans*

**Annexa 3** : Resultados do método de difusão com discos em agar com os óleos de Pleno Natura