

# Efetividade *in vitro* de *Aloe Vera in natura*, gel de clorexidina a 0,12% e gel de clorexidina a 2% sobre *Enterococcus faecalis*

## *In vitro* effectiveness of *Aloe vera in natura*, 0.12% chlorhexidine gel, and 2% chlorhexidine gel against *Enterococcus faecalis*

### Resumo

Objetivo: Comparar a ação de gel de *Aloe vera in natura*, gel de clorexidina a 0,12% e gel de clorexidina a 2% sobre *Enterococcus faecalis*.

Metodologia: Utilizaram-se 40 placas Petri contendo o meio de cultura Ágar Sangue. Em 10 placas foram feitos poços no centro, com o auxílio do fundo de uma pipeta de vidro, onde foram depositados discos de papel absorvente embebidos em água destilada esterilizada (controle negativo). Em outras 10 placas, semearam-se os microrganismos *Enterococcus faecalis* (controle positivo). Nas 20 placas restantes, realizaram-se 4 poços nos diferentes quadrantes da placa e semearam-se os microrganismos, distribuindo-se 4 discos umedecidos em cada substância, a saber: 1 em água destilada, 1 em gel de clorexidina a 2%, 1 em gel de clorexidina a 0,12% e 1 com gel de *Aloe vera in natura*. Os grupos foram analisados após 60h, comparando-se os halos de inibição de crescimento dos microrganismos.

Resultados Houve diferença estatística significativa de inibição para *Enterococcus faecalis* entre as substâncias, em ordem decrescente: gel de clorexidina a 2%, gel de clorexidina a 0,12%, gel de *Aloe vera in natura* e água destilada ( $P < 0,05$ ).

Conclusão: O gel de *Aloe vera in natura* teve efetividade antimicrobiana menor que as duas concentrações de clorexidina testadas.

Palavras-chave: *Aloe*; babosa; clorexidina; *Enterococcus faecalis*; *in vitro*

### Abstract

Purpose: To compare the antimicrobial effect of *Aloe vera in natura* gel, 0.12% chlorhexidine gel, and 2% chlorhexidine gel against *Enterococcus faecalis*.

Methods: Forty Petri dishes containing agar blood culture medium were used. Ten paper disks soaked in sterilized distilled water were placed in the center of ten Petri dishes (negative control). Microorganism strains were seeded on the other 30 Petri dishes, and 10 dishes received one central paper disk soaked in distilled water (positive control). The remaining 20 dishes received 4 disks per dish moistened in the following substances: distilled water; 2% chlorhexidine gel; 0.12% chlorhexidine gel; and *Aloe vera in natura* gel. After 60h, all groups were analyzed, and the microorganism growth inhibition halos were compared.

Results: The results showed statistically significant differences of antimicrobial effect against *E. faecalis* among the tested substances, in the following descending order: 2% chlorhexidine gel; 0.12% chlorhexidine gel; *Aloe vera in natura* gel; and distilled water ( $P < 0.05$ ).

Conclusions: *Aloe vera in natura* gel had lower antimicrobial effect than both concentrations of chlorhexidine tested.

Key words: *Aloe*; chlorhexidine; *Enterococcus faecalis*; *in vitro*

Tereza A. Delle Vedove Semenoff<sup>a</sup>  
Weverton Rayder Silva Ferreira<sup>b</sup>  
Alex Semenoff-Segundo<sup>c,d</sup>  
Eder Ricardo Biasoli<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, Araçatuba, SP, Brasil

<sup>b</sup> Curso de Odontologia, Centro Universitário de Várzea Grande, UNIVAG/MT, Várzea Grande, MT, Brasil

<sup>c</sup> Área de Periodontia, Centro de Especialidades Odontológicas para Pacientes Especiais – CEOPE, Cuiabá, MT, Brasil

<sup>d</sup> Odontologia em Âmbito Hospitalar, Universidade de Cuiabá, MT, Brasil

<sup>e</sup> Departamento de Patologia e Propeidética Clínica, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, Araçatuba, SP, Brasil

### Correspondência:

Alex Semenoff Segundo  
Rua Professora Azélia Mamoré de Melo, 318.  
Edifício Renoir, apt. 63. Bairro Araés.  
Cuiabá, MT – Brasil  
78005-700  
E-mail: semenoff@uol.com.br

Recebido: 14 de dezembro, 2007  
Aceito: 18 de junho, 2008

## Introdução

Desde a civilização antiga dos egípcios até os dias atuais, os produtos naturais são fontes medicinais importantes e a base para descoberta de novos fármacos. Em importante seminário nessa área, sugeriu-se a realização de estudos científicos e clínicos sobre tais produtos, em especial os fitoterápicos, possibilitando sua utilização com segurança pela população (1). O *Aloe vera* é da família das liliáceas, popularmente conhecida no Brasil como babosa. Esta denominação ocorre devido à existência de um gel mucilaginoso no interior da folha, freqüentemente utilizado em diversas áreas, como produtos alimentícios, como cosméticos e na área da saúde (2,3). O gel mucilaginoso tem em sua composição muitos componentes potencialmente ativos como aminoácidos, açúcares, enzimas, vitaminas e minerais, os quais proporcionam propriedades importantes como penetração em tecidos, efeito antiinflamatório, função imuno-reguladora e propriedades antimicrobianas (2,4).

O processo patogênico da doença endodôntica envolve muitos eventos infecto-inflamatórios capazes de estimular a geração de moléculas, tais como interleucinas, prostaglandinas, metaloproteinasas, conduzindo à ativação da resposta inata e específica, determinante de maior ou menor progressão da doença nos tecidos periapicais (5,6). No tratamento endodôntico, busca-se uma substância química capaz de ter boa tolerância tecidual, auxiliar no processo de reparo, dissolver debris no interior do sistema de canais e produzir efeito antimicrobiano (7,8). O *Aloe vera* dispõe de algumas propriedades compatíveis com os requisitos descritos; assim, além de ter ação antimicrobiana, pode auxiliar no processo de cicatrização do periápice, de forma semelhante ao que ocorre em outros tecidos, como os tecidos epitelial e conjuntivo (2,3,9).

Os microrganismos causadores da doença endodôntica organizam-se em forma de biofilme. Este é composto por uma ou mais comunidades de microrganismos, sendo acrescido de uma matriz aderida a uma estrutura sólida como o dente e seu sistema interno de canais (10-12). Quando o tratamento mecânico é realizado, ocorre uma severa desorganização microbiana; entretanto, algumas vezes após o selamento do canal, o *Enterococcus faecalis* persiste e auxilia na reorganização de um novo biofilme. Este microrganismo está fortemente ligado ao insucesso do tratamento endodôntico (10,13) e substâncias com as propriedades do *Aloe vera* poderiam auxiliar a resolver esta condição.

O digluconato de clorexidina tem sido testado e utilizado como uma substância irrigante no tratamento de canais (8,14). Existem evidências que sugerem que o hidróxido de cálcio tenha dificuldades em inibir o crescimento de *E. faecalis* (13), sendo uma opção usar a clorexidina como solução antimicrobiana complementar à ação do hidróxido de cálcio. Diante da problemática levantada e do fato de a folha do *Aloe vera* ser um produto de baixo custo e facilmente encontrado no Brasil, comparou-se a efetividade *in vitro* do gel de *Aloe vera in natura*, gel de digluconato de clorexidina a 0,12% e gel de digluconato de clorexidina a 2% na inibição de crescimento de *Enterococcus faecalis*.

## Metodologia

Foram utilizadas três substâncias-teste em forma de gel: gluconato de clorexidina a 0,12%, gluconato de clorexidina a 2% e o produto *in natura* coletado a partir da folha do *Aloe vera*. Os géis de clorexidina a 0,12% (Gluconato de clorexidina a 0,12%; Gel base qsp - 20g) e a 2% (Gluconato de clorexidina a 0,12%; Gel base qsp - 20g) foram adquiridos em uma farmácia de manipulação de Cuiabá, MT, que apresenta controle de qualidade.

Coletaram-se amostras das folhas da planta *Aloe vera* na zona rural da cidade de Várzea Grande, MT. Depois de um corte transversal da folha, extraiu-se da porção central um produto *in natura* em forma de gel. A coleta da folha e a colocação do gel em teste microbiológico foram realizadas no período matutino e todo o procedimento teve uma duração média de trinta minutos. Todos os materiais foram mantidos em recipientes esterilizados e lacrados até o momento do teste.

Usaram-se no total 40 placas de Petri com meio de cultura Ágar Sangue (Newprov Produtos Laboratoriais, São José dos Pinhais, PR, Brasil) Desse total, em 10 placas não se realizou a semeadura dos microrganismos para avaliar a ausência de contaminação (controle negativo). Trinta placas foram usadas para semeadura dos microrganismos, sendo 20 para teste das substâncias e 10 para avaliar o crescimento dos microrganismos (controle de contaminação). Para a colocação dos discos de papel nas respectivas placas, realizaram-se poços com 6mm de diâmetro e 2mm de profundidade no centro do meio de cultura com auxílio do fundo de uma pipeta de vidro esterilizada.

Utilizou-se nesse estudo cepa de *Enterococcus faecalis*, com registro ATCC 10231. Os microrganismos foram inoculados em 7mL de BHI (*Brain Heart Infusion* – Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA) e levados à estufa em temperatura constante de 37°C por 24h para replicação; em seguida, os mesmos foram suspensos em solução salina, atingindo a concentração próxima de  $3 \times 10^8$  cel./mL, com turvamento similar ao tubo #1 da escala MacFarland.

Inoculou-se 0,1mL da suspensão por toda a extensão das placas de modo uniforme, utilizando-se *swabs* estéreis (Rayswab indústria Brasileira, Diadema, SP, Brasil).

Os discos de papel absorvente (Papel Filtro Qualy, São José dos Pinhais, PR, Brasil) com 5mm de diâmetro foram obtidos através do uso de um perfurador de papel. Os discos foram previamente esterilizados e embebidos nas seguintes substâncias: gel de gluconato de clorexidina a 0,12%, gel de gluconato de clorexidina a 2%, gel de *Aloe vera* e água destilada esterilizada. A inserção dos filtros de papel seguiu o exemplo de um mostrador de relógio, no qual se poderia observar às 12h o digluconato de clorexidina a 0,12%, às 15h o digluconato de clorexidina a 2%, às 18h o gel de *Aloe vera in natura* e às 21h a solução controle. Após o término dessa etapa, as placas-teste e as placas de controle negativo e de controle positivo foram colocadas na estufa a 37°C e mantidas nessa condição até a coleta dos dados, no tempo experimental de 60 horas.

Para a mensuração dos halos de inibição, uma única examinadora experiente e treinada utilizou uma lupa estereoscópica (Estek, São Paulo, SP, Brasil) e um paquímetro digital (Mitutoyo Sul Americana Ltda – modelo 500144B, Suzano, SP, Brasil). Após a coleta dos dados, obtiveram-se as médias dos grupos, constituídos pelas diferentes substâncias, no tempo experimental de 60 horas. A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA), com correção de Bonferroni, ao nível de significância de 5%.

## Resultados

As placas de controle negativo apresentaram-se livres de qualquer crescimento bacteriano, e as de controle positivo demonstraram crescimento uniforme das bactérias por toda a extensão do meio de cultura. No momento da leitura das placas, observou-se união dos halos de inibição do digluconato de clorexidina 0,12% e 2% e do gel *in natura* do *Aloe vera* em uma placa, a qual foi excluída da análise.

A Figura 1 representa as comparações das médias em milímetros do halo de inibição no tempo experimental de 60 horas. Houve diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) entre todos os grupos, sendo a inibição do crescimento do microorganismo, em ordem decrescente: gel de clorexidina a 2%, gel de clorexidina a 0,12%, gel de *Aloe vera in natura* e água destilada (controle).

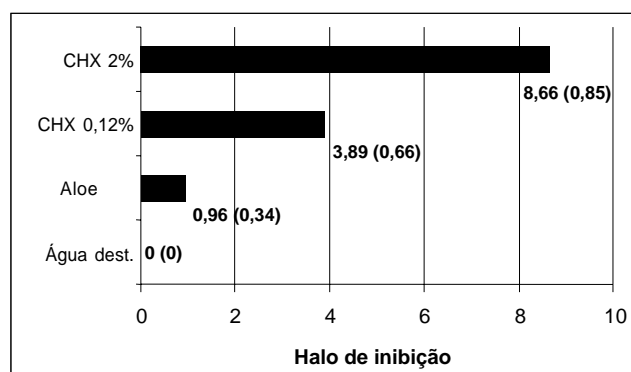


Fig. 1. Comparação das médias (desvios-padrão) em milímetros dos halos de inibição para a bactéria *E. Faecalis*. Médias seguidas de letras distintas são estatisticamente diferentes ao nível de significância de 0,05.

## Discussão

Sem dúvida, os produtos naturais são atualmente a maior fonte de informações para produção de fármacos (1) e, dentre eles, o *Aloe vera* é um produto bastante utilizado pela população e pela indústria farmacêutica. A ação antimicrobiana é uma das propriedades desejadas; entretanto, confunde-se com propriedades antiinflamatória e reparadora, o que é característica do processo saúde-doença. Martin e Ernst (4), em uma revisão sistemática

sobre plantas medicinais e vírus, citam dois ensaios clínicos sobre o efeito do *Aloe vera* sobre vírus, com relato de efeito antimicrobiano e auxiliar na cicatrização de lesões de pele. Semenoff-Segundo et al. (9) utilizaram dois produtos naturais, sendo um deles o *Aloe vera*, e seus resultados demonstraram que o gel de *Aloe vera* auxiliaria o processo de reparo por segunda intenção no dorso de ratos, não existindo dados clínicos de abscesso ou supuração. Além disso, Kiliç (3) estudou o processo de reparo em intestinos de ratos, o que é uma séria complicação pela complexidade do processo infecto-inflamatório, observando que o gel de *Aloe vera* mostrou-se superior ao grupo controle. Atribui-se este resultado à associação dos efeitos antimicrobiano, antiinflamatório e reparador dessa substância. Parece que o gel de *Aloe vera* tem mecanismo de ação sinérgico entre efeitos antiinflamatório, reparador e antimicrobiano (3,4,9), inclusive com redução de interleucinas inflamatórias ligadas ao processo de estabelecimento de doença no periodonto apical (6,5).

A preocupação dos cirurgiões-dentistas com a sanificação dos sistemas de canais radiculares e o estímulo de reparo dos tecidos periapicais tem sido árdua e incessante. Entretanto, ao se encontrar uma substância com potencial de eliminar os microrganismos presentes no interior do sistema de canais, nota-se também uma agressão às células do coto pulpo-periodontal ou retardo no reparo da região. Ao contrário, quando uma substância parece ser capaz de induzir reparo sem ocorrência de necrose celular, a mesma parece não possuir efeito antimicrobiano capaz de sanificar o sistema de canais endodônticos (8,15). A clorexidina em forma líquida ou em forma de gel tem sido usada tanto na irrigação dos canais radiculares como na medicação intracanal por apresentar aspectos antimicrobianos e pouco lesivos aos tecidos periapicais (8), além de apresentar boa ação clínica ao tratamento endodôntico (16).

No presente trabalho, propôs-se estudar *in vitro* o efeito antimicrobiano do gel de *Aloe vera* devido às suas ações antiinflamatória, moduladora e, por consequência, antimicrobiana em tecidos de outras partes do corpo (3,9); logo, compreender seu potencial no tratamento endodôntico poderia ser um achado importante. Entretanto, os resultados mostraram menor inibição do crescimento do microorganismo testado pelo gel de *Aloe vera* em comparação ao gel de clorexidina a 0,12% e ao gel de clorexidina a 2%. Isto pode ser atribuído a uma real menor efetividade antimicrobiana do produto comparada à clorexidina, mas pode ter ocorrido devido à metodologia empregada, uma vez que os produtos podem ter eficácia diferente no interior dos tecidos *in vivo*.

A metodologia de difusão em placa Petri com mensuração dos halos de inibição é bastante utilizada em laboratório mesmo nos dias atuais (14,18); entretanto, existem críticas a esse método por não demonstrar o verdadeiro potencial da substância devido à falta de solubilidade e de espalhamento da substância em teste. Para minimizar essa questão, utilizaram-se as duas substâncias de clorexidina também em forma de gel (19). Escolheu-se o microorganismo *E faecalis* por este estar fortemente ligado ao insucesso do

tratamento endodôntico (13,17); assim, encontrar possíveis produtos que auxiliem na efetividade antimicrobiana desse microrganismo seria clinicamente muito importante.

Estudos *in vitro* são importantes por gerar conhecimento, além de potencializar modificações na estrutura da substância antes de empregá-la em modelo animal e em seres humanos. No entanto, a extrapolação dos resultados é limitada, pois ensaios laboratoriais não são capazes de representar a realidade do meio interno dos estudos *in*

*vivo*. Desta forma, estudos em animais e ensaios clínicos são necessários para comprovar a real efetividade das substâncias testadas uma vez assegurada sua biocompatibilidade.

## Conclusões

Diante da metodologia proposta, conclui-se que frente ao microrganismo *Enterococcus faecalis* o gel de *Aloe vera in natura* teve efetividade menor em relação ao gel de clorexidina 0,12% e ao gel de clorexidina a 2%.

## Referências

1. Barne J. Pharmacovigilance of Herbal Medicines: Current state and future directions. *Drug Saf* 2006;29:341-70.
2. Reynolds T, Dweck AC. Aloe vera leaf gel: a review update. *J Ethnopharmacol* 1999;68:3-37.
3. Kiliç N. The effect of Aloe vera gel on experimentally induced peritoneal adhesions in rats. *The Revue de Med Vet* 2005; 156:409-13.
4. Martin KW, Ernst E. Antiviral agents from plants and herbs: a systematic review. *Revue de Med Vet* 2003;8:77-90.
5. Farber PA, Seltzer S. Endodontics microbiology. I. Etiology. *J Endod* 1988;14:363-71.
6. Takahashi K. Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. *Int Endod J* 1998;31:311-25.
7. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD. Mecanismo de ação do hipoclorito de sódio. *Braz Dent J* 2002;13:113-7.
8. Semenoff TA, Semenoff-Segundo A, Figueiredo JA. Biocompatibility of different intracanal medications in rat buccal submucosa tissue. *J Appl Oral Sci* 2008;16:12-7.
9. Semenoff-Segundo A, Bosco AF, Maia D, Ribeiro RV, Aguiar EB, Rocato GE et al. Influência do *Aloe vera* e Própolis na contração de feridas em dorso de ratos. *Periodontia* 2007;17:5-10.
10. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod* 1992; 18:427-30.
11. Siqueira JF, Rôças IN, Lopes HP. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;93:174-8.
12. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000 2005;38:135-87.
13. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in Lithuanian population. *J Endod* 2000;26:593-5.
14. Semenoff-Segundo A, Bosco AF, Semenoff TA, Rocatto EG, Cirilo DM, Buzelle SL et al. Efetividade do gluconato de clorexidina a 0,12% e do digluconato de clorexidina a 2%, adquiridos em diferentes dentais e farmácias na cidade de Cuiabá, sobre *Candida albicans*. *Periodontia* 2007;17:41-5.
15. Estrela C, Estrela CR, Pécora JD, Amorim LF, Toledo OA. Eficácia antimicrobiana de formulações de digluconato de clorexidina de concentrações e procedências diferentes. *Robrac* 2004;13: 10-3.
16. Zamany A, Safavi K, Spåberg LS. The effect of chlorhexidine as an Endodontics disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;96:578-1.
17. Gomes BP, Pinheiro ET, Sousa EL, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC et al. *Enterococcus faecalis* in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:247-53.
18. Tay FR, Hiraishi N, Schuster GS, Pashley DH, Loushine RJ, Ounsi HF et al. Reduction in antimicrobial substantivity of MTAD after initial sodium hypochlorite irrigation. *J Endod* 2006;32: 970-5.
19. Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CR, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Braz Dent J* 2003; 14:58-62.