



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENDODONTIA

Jardel Dorigon dos Santos

**Ação antimicrobiana de agentes quelantes na desinfecção de canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis* após protocolos de irrigação final**

Florianópolis  
2021

Jardel Dorigon dos Santos

**Ação antimicrobiana de agentes quelantes na desinfecção de canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis* após protocolos de irrigação final**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração: Endodontia  
Orientador: Profa. Dra. Thais Mageste Duque

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Santos, Jardel Dorigon dos

Ação antimicrobiana de agentes quelantes na desinfecção de canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis* após protocolos de irrigação final / Jardel Dorigon dos Santos ; orientadora, Thais Mageste Duque, 2021.  
59 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós Graduação em Odontologia, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Odontologia. 2. Endodontia. 3. Soluções Irrigadoras. 4. Microbiologia. 5. Desinfecção. I. Duque, Thais Mageste. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Odontologia. III. Título.

Jardel Dorigon dos Santos

**Ação antimicrobiana de agentes quelantes na desinfecção de canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis* após protocolos de irrigação final**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra. Thais Mageste Duque  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Niels Salles Willo Wilhelmsen  
Faculdade Unisociesc de Joinville

Prof. Dr. Douglas Cecchin  
Universidade de Passo Fundo

Prof. Dr. Eduardo Antunes Bortoluzzi  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Profa. Dra. Thais Mageste Duque  
Orientadora  
Florianópolis, 2021

*Este trabalho é dedicado aos meus pais, Marlene e Adenilson, pelo incentivo e apoio em todas as conquistas da minha vida. Amo vocês!*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Marlene** e **Adenilson**, que sempre abraçaram comigo todos os meus sonhos e fizeram com que eu conseguisse chegar até aqui, mesmo de longe. Obrigado por me proporcionarem um lar de amor e carinho, sempre me incentivando a seguir os caminhos que percorri. Muito obrigado, amo vocês!

À minha irmã **Simone**, que se tornou minha melhor amiga da vida, em quem posso confiar e contar em todos os momentos. Obrigado por entender minha falta de visitas nesse período e pelas horas de conversa. Te amo!

Ao **Lucas**, meu companheiro nessa jornada, que ouviu minhas reclamações e lamentações além de comemorar comigo as minhas vitórias. Passamos juntos pela experiência do Mestrado, sempre nos apoiando com palavras e ações que nos fizesse seguir em frente. Muito obrigado.

À **UFSC**, Universidade Pública e de qualidade, que mesmo nesses tempos sombrios onde a educação e ciência são tratadas com descaso, consegue manter-se firme e lutando contra a precarização do sistema de ensino. Sinto um enorme orgulho em dizer que passei por aqui. Agradeço em especial ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO)**, professores, técnicos, servidores e terceirizados, que fazem com que esse pilar na sociedade se mantenha firme e conseguem formar profissionais de qualidade.

À minha orientadora, **Prof. Dra. Thais Mageste Duque**, por me abraçar desde o primeiro dia, me acolher nos momentos de angústia e me aconselhar quando necessitei. Nesses dois anos contigo cresci muito profissionalmente, pessoalmente e só foi possível graças ao seu conhecimento e paciência. Obrigado por me mostrar o caminho maravilhoso da microbiologia, ter paciência pra me ensinar metodologias, por ficar comigo horas e horas no laboratório enquanto realizávamos nossa pesquisa, por demonstrar o amor que tu tens pelo ensino e pelos alunos, por me proporcionar oportunidades dentro do meio acadêmico e acreditar no meu potencial como orientado e Endodontista. Você é LUZ e INSPIRAÇÃO. Muito mais que minha orientadora, você se tornou uma amiga.

Aos demais professores da Área de Concentração em Endodontia, **Prof. Dr. Lucas Roberti da Fonseca Garcia**, **Profa. Dra. Cleonice da Silveira Teixeira**, **Profa. Ana Maria Hecke Alves**, **Prof Dr. Eduardo Antunes Bortoluzzi**, por fazerem

parte do meu crescimento como profissional com seus ensinamentos e por me permitirem fazer parte da **Equipe EndoUFSC**.

Aos meus professores **Dr. Roberto César do Amaral** que me apresentou o mundo da pesquisa científica e me fez ver outros horizontes possíveis dentro da Odontologia, **Me. Maria Luiza Traiano** que me contaminou pelo seu amor pela Endodontia e fez com que eu trilhasse esse lindo caminho e **Dr. Niels Willo Salles Wilhelmsen** que participou efetivamente do meu crescimento como Endodontista com seus ensinamentos. Minha admiração por vocês.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Ruiz Mazzon**, que atendeu prontamente nosso pedido pra utilizar o Laboratório de Genética Molecular de Bactérias (GeMBac) permitindo que esse trabalho fosse realizado, além do acolhimento durante o processo, e à **Amanda Hecktheuer** pela parceria dentro do laboratório e por dividir seus conhecimentos comigo.

Ao **Biobanco de Dentes Humanos da Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC)**, em nome da **Prof. Me. Lea Maria Franceschi Dallanora**, por ter cedido parte dos dentes utilizados para essa pesquisa.

Ao **Fundo de Amparo à Pesquisa de Santa Catarina (FAPESC)**, por ter me proporcionado bolsa de pesquisa durante grande parte do meu Mestrado.

Aos meus amigos de Mestrado **Amanda, Filipe, Ihan, Matheus, Dayana e Gabriel** que fizeram com esse período se tornasse mais leve e divertido.

Às demais pessoas que de alguma forma contribuíram para que esse estudo fosse realizado.

É no conhecimento que existe uma chance de libertação (KARNAL, Leandro).

## RESUMO

O Hipoclorito de Sódio (NaOCl) é a substância química mais difundida e utilizada na Endodontia em função das suas características de desinfecção e dissolução tecidual. Porém, não remove todo o conteúdo microbiano do sistema de canais radiculares (SCR) e é responsável pela remoção apenas da parte orgânica da *smear layer* formada após o preparo químico-mecânico (PQM). O Ácido Etilenodiamino Tetracético Dissódico (EDTA) é o quelante de escolha para remoção da parte inorgânica da lama dentinária. No entanto, outras soluções vêm sendo relatadas na literatura. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar e comparar a eficiência do Ácido Glicólico (AG) e do NaOCl/Ácido Etidrônico (NaOCl/AE) na desinfecção do SCR inoculados com *Enterococcus faecalis* em diferentes protocolos de irrigação final, associado ou não ao uso do NaOCl 2,5% como substância irrigadora. Para tanto, 98 raízes de pré-molares inferiores foram selecionadas. Para padronização, as mesmas foram inicialmente instrumentados com Limas X Wire NiTi 25.08 e 40.06. Depois, os dentes foram contaminados com *Enterococcus faecalis* através de um protocolo de contaminação de 5 dias. Após contaminação, os dentes foram preparados com lima X Wire NiTi 50.06. Os dentes foram distribuídos em 7 grupos (n=14) de acordo com a substância utilizada na instrumentação e no protocolo final de irrigação: Grupo I - NaOCl/EDTA 17%; Grupo II - NaOCl/AE 17%; Grupo III - NaOCl/AG 17%; Grupo IV - Soro/EDTA 17%; Grupo V - Soro/AE; Grupo VI - Soro/AG 17%; Grupo VII – Grupo controle (instrumentação e irrigação final apenas com soro fisiológico). Coletas microbiológicas foram realizadas em três momentos diferentes: Inicial (C1); após o PQM (C2); após uso dos protocolos de irrigação final (C3). As coletas foram diluídas e plaqueadas em meio de cultura próprio. Depois, foram incubadas em estufa a 37°C por 48 horas para contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFCs) e tabuladas para análise estatística. Para comparação intragrupo, foi utilizado o teste ANOVA de medidas repetidas e comparação intergrupo teste t de Student com nível de significância de 5%. Os resultados mostraram que o GC apresentou os menores valores de redução microbiológica na coleta C2 e C3. Avaliando a C3, quando comparados os grupos que utilizou NaOCl 2,5% na instrumentação, o NaOCl/AE apresentou melhores resultados (p=0,009). Porém, quando utilizado soro fisiológico na instrumentação, não houve diferença estatística entre os grupos Soro/AE (p=0,082), Soro/EDTA (p=0,099), mas o grupo Soro/AG apresentou valores menores e semelhantes ao GC (p=0,099). Conclui-se que todos os protocolos testados apresentaram redução na UFCs/mL, mas a associação de instrumentação com NaOCl 2,5% e o uso de AE como irrigante final apresentou os melhores valores de redução microbiológica.

**Palavras-chave:** Endodontia. Soluções Irrigadoras. EDTA. Ácido Etidrônico. Ácido Glicólico.

## ABSTRACT

Sodium Hypochlorite (NaOCl) is the most widespread chemical substance used in Endodontics due to its disinfection and tissue dissolution characteristics. However, it does not remove all the microbial content from the root canal system (RCS) and is responsible for removing only the organic part of the smear layer formed after the chemical mechanical preparation (CMP). Disodium Ethylenediamine Tetraacetic Acid (EDTA) is the chelator of choice for removing the inorganic part of dentinal slurry. However, other solutions have been studied in the literature. Thus, the objective of this study was to evaluate and compare the efficiency of Glycolic Acid (GA) and NaOCl/Etidronic Acid (NaOCl/AE) in the disinfection of RCS inoculated with *Enterococcus faecalis* in different final irrigation protocols, associated or not with use of 2,5% NaOCl as an irrigating substance. For this purpose, 98 roots of mandibular premolars were selected. For standardization, they were initially instrumented with X Wire NiTi Files 25.08 and 40.06. Afterwards, the teeth were contaminated with *Enterococcus faecalis* through a 5-day contamination protocol. After contamination, the teeth were prepared with an X Wire NiTi 50.06 file. The teeth were distributed into 7 groups (n=14) according to the substance used in the instrumentation in the final irrigation protocol: Group I - NaOCl/EDTA 17%; Group II - NaOCl/AE; Group III - NaOCl/AG 17%; Group IV - Serum/EDTA 17%; Group V - Serum/AE; Group VI - Serum/AG 17%; Group VII – Control group (instrumentation and final irrigation with saline solution only). Microbiological collections were performed at three different times: Initial (C1); after the CMP (C2); after using the final irrigation protocols (C3). The collections were diluted and plated in their own culture environment. Then, they were incubated at 37°C for 48 hours to count the Colony Forming Units (CFUs) and tabulated for statistical analysis. For intragroup comparison, the repeated measures ANOVA test and the Student t test were used for intergroup comparison, with a significance level of 5%. The results showed that the CG showed the lowest microbiological reduction values in collection C2 and C3. Assessing C3, when comparing the groups that used 2.5% NaOCl in instrumentation, NaOCl/AE showed better results (p=0,009). However, when saline solution was used in the instrumentation, there was no statistical difference between the Serum/AE (p=0,082), Serum/EDTA groups (p=0,099), but the Serum/AG group showed lower values and similar to the CG (p=0,099). It is concluded that all tested protocols showed a reduction in CFUs/mL, but the association of instrumentation with 2.5% NaOCl and the use of AE as a final irrigant showed the best microbiological reduction values.

**Keywords:** Endodontic. Irrigation Solution. EDTA. Etidronic Acid. Glycolic Acid.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Dente utilizado para experimento (a); disco diamantado dupla face 7086 (b); remoção da coroa (c); medição com paquímetro digital (d); patência com lima #15 manual (e); condicionamento ácido da porção externa apical (f). .....	27
<b>Figura 2.</b> Adesivo Single Bond 2 (a); uso do adesivo na região apical (b); resina utilizada para simular sistema de canais fechados (c); preparo inicial com lima reciprocante 25.08 (d); uso de EDTA (e); dente após selamento externo (f). .....	28
<b>Figura 3.</b> ATCC 29212 congelada (a); placa com BHI ágar após reativação (b); BHI caldo estéril (c); Inóculo preparado (d); microtubos para ajuste de concentração bacteriana (e); ajuste da concentração em espectrofotômetro (f). .....	29
<b>Figura 4.</b> Dente em inóculo (a); protocolos de centrifugação (b e c). .....	30
<b>Figura 5.</b> Coleta inicial (a); reparo reciprocante 50.06 (b); irrigação com NaOCl 2,5% (c); uso da solução quelante (d); coleta final após protocolos (e). .....	32
<b>Figura 6.</b> Cone da coleta em BHI estéril e diluição seriada (a); plaqueamento da alíquota após as diluições (b e c). .....	33
<b>Figura 7.</b> C1, C2 e C3 do grupo Controle .....	36
<b>Figura 8.</b> C1, C2 e C3 do grupo NaOCl/AE. ....	37
<b>Figura 9.</b> C1, C2 e C3 do grupo NaOCl/AG. ....	37
<b>Figura 10.</b> C1, C2 e C3 do grupo NaOCl/EDTA. ....	37
<b>Figura 11.</b> C1, C2 e C3 do grupo Soro/AE. ....	38
<b>Figura 12.</b> C1, C2 e C3 do grupo Soro/AG. ....	38
<b>Figura 13.</b> C1, C2 e C3 do grupo Soro/EDTA. ....	38

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Distribuição dos grupos conforme os protocolos finais de irrigação utilizados. .....	31
<b>Tabela 2.</b> Valores médios (Log10) de UFC/mL em cada grupo nas diferentes coletas. .....	34
<b>Tabela 3.</b> Valores de redução (%) em cada grupo nas diferentes coletas. ....	36

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Valores médios de Log10 para UFC/mL nos diferentes grupos e nos diferentes tempos de coleta. ....	35
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE - Ácido Etidrônico

AF - Ácido Fosfórico

AG - Ácido Glicólico

BDH/UNOESC - Biobanco de Dentes Humanos da Universidade do Oeste de Santa Catarina

BHI - Brain Hearth Infusion

CEPSH - Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos

CT - Comprimento de Trabalho

EDTA - Etilenodiamino Tetracético Dissódico

MCVL - Microscopia Confocal de Varredura a Laser

NaOCl - Hipoclorito de Sódio

PQM - Preparo químico-mecânico

SCR - Sistema de Canais Radiculares

UFC - Unidade Formadora de Colônia

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO / REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS E HIPÓTESE .....</b>	<b>25</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	25
2.3 HIPÓTESE .....	25
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
3.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA.....	26
3.2 PREPARO DOS ESPÉCIMES E INSTRUMENTAÇÃO DOS CANAIS RADICULARES.....	26
3.3 PREPARO DO INÓCULO E CONTAMINAÇÃO POR ENTEROCOCCUS FAECALIS.....	28
3.4 GRUPOS E PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO FINAL .....	30
3.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	31
3.6 PROCESSAMENTO MICROBIOLÓGICO DAS AMOSTRAS (DILUIÇÃO, CONTAGEM DAS UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS - UFC).....	32
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>34</b>
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>44</b>
<b>APÊNDICE A – Termo de Doação .....</b>	<b>51</b>
<b>APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....</b>	<b>52</b>
<b>ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....</b>	<b>54</b>



## 1 INTRODUÇÃO / REVISÃO DE LITERATURA

A Endodontia pode ser descrita como a área da Odontologia responsável pelo controle dos processos infecciosos pulpares e perirradiculares (LOPES; SIQUEIRA JR. 2010). Para tal, é necessário que o profissional especialista nessa área seja capaz de determinar as etapas do processo infeccioso, suas vias de acesso, a colonização microbiana e o efeito dessa infecção no hospedeiro (LOPES; SIQUEIRA JR, 2010).

Segundo Cohen e Hargreaves (2011), os objetivos da limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares incluem a remoção de tecidos moles e duros contaminados; o estabelecimento do espaço para posterior inserção de uma medicação intracanal e/ou obturação; e a manutenção da amplitude da raiz, permitindo que a substância irrigadora desinfetante penetre por todo o conduto até a porção apical.

O índice de sucesso quando o tratamento endodôntico é realizado com critérios rígidos de assepsia atinge 87% (NG *et al.*, 2007). Em reintervenções endodônticas, esse desfecho pode alcançar 77% (NG; MANN; GULABIVALA, 2008). O sucesso endodôntico está relacionado com manutenção do acesso à anatomia apical, obturação em todas as dimensões do canal e ausência de extravasamento de materiais para o tecido periapical, além de um perfeito selamento coronário (NG *et al.*, 2007).

O canal radicular não é único e oval, mas composto por um sistema de canais (SCR) interligados entre si, principalmente nos 3mm apicais (ORDINOLA-ZAPATA *et al.*, 2019). Isso faz com que os instrumentos endodônticos não consigam tocar todas as paredes durante a limpeza mecânica (ZUOLO *et al.*, 2018). Assim, faz-se necessário a utilização de outros métodos para favorecer a remoção de microrganismos patógenos (NAIR *et al.*, 1999).

Esse sistema anatômico complexo favorece o crescimento microbiano de natureza mista (MACHADO *et al.*, 2020). Porém, um menor grupo de bactérias é responsável pela perpetuação de lesões perirradiculares, sendo o *Enterococcus faecalis* o mais conhecido (KHALIFA *et al.*, 2016). Inicialmente esses microrganismos ficam dispostos na luz do canal principal, mas com o decorrer do tempo, podem migrar para o interior dos túbulos dentinários (SASSONE *et al.*, 2007). Em alguns casos, tais microrganismos podem sobreviver em situações adversas, como em meio alcalino ou

desprovido de nutrientes por um longo período de tempo (ROSEN *et al.*, 2016) e ainda apresentarem capacidade proliferativa quando um novo substrato for estabelecido (SEDGLAY; LENNAN; APPELBE, 2005).

Irrigantes endodônticos são substâncias empregadas para a limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares (TORABINEJAD *et al.*, 2002). Na irrigação de dentes despolpados, eles têm por finalidade, dentre outras, inativar o biofilme e suas toxinas; dissolver remanescentes de tecido orgânico; além de eliminar a *smear layer* formada durante a instrumentação dos condutos (TORABINEJAD *et al.*, 2002). A efetividade química do agente de irrigação vai depender da sua concentração, volume e tempo de ação, enquanto que sua efetividade física depende das condições propícias da ação de fluxo e refluxo eficientes para agir em todo o sistema de canais radiculares (HAAPASALO *et al.*, 2005).

A solução irrigadora mais utilizada na endodontia é o hipoclorito de sódio (NaOCl) devido a sua eficácia contra microrganismos patogênicos, dissolução de tecido orgânico e ação rápida (BASRANI; HAAPASALO, 2012). Porém, é considerado citotóxico (em casos de extravasamento), não possui substantividade, é corrosivo, apresenta odor desagradável e age apenas parte orgânica presente na camada de lama dentinária após instrumentação (BASRANI; HAAPASALO, 2012). No mercado é possível encontrar soluções variando de 0,5% a 6% e a escolha da concentração ideal ainda é controversa na literatura (BASRANI; HAAPASALO, 2012).

A maior vantagem do uso do NaOCl, quando comparado aos demais irrigantes, é sua capacidade de dissolver matéria orgânica (ESTRELA *et al.*, 2002). A ação do NaOCl na dissolução do tecido pulpar é caracterizada pelo efeito combinado entre dois de seus subprodutos, o hidróxido de sódio e o ácido hipocloroso, cada um reagindo com determinados componentes da polpa dentária (ESTRELA *et al.*, 2002). O hidróxido de sódio reage com ácidos graxos (óleos e gorduras) presentes na matéria orgânica, formando sais de ácidos graxos (sabão) e glicerol (álcool) (ESTRELA *et al.*, 2002). O ácido hipocloroso reage com o grupamento amina dos aminoácidos das proteínas, formando cloraminas e água, dando ao NaOCl ação antimicrobiana adicional (ESTRELA *et al.*, 2002). Além disso, a liberação de oxigênio nascente e cloro, permite a ação desodorizante e clareadora das estruturas dentais (ESTRELA *et al.*, 2002). Entretanto, essas ações (dissolução, desinfecção, desodorização e

clareamento) dependem da temperatura, pH, concentração, quantidade de tecido orgânico, volume da substância, tempo, superfície de contato e agitação da solução (LOPES; SIQUEIRA JR., 2010). O uso apenas do NaOCl não é eficaz para completa remoção da *smear layer* e, dessa forma, faz-se necessário adotar o uso de outras substâncias com poder quelante para complementar a limpeza dos canais radiculares após o preparo químico mecânico (TORABINEJAD; WALTON 2010).

O Ácido Etilenodiamino Tetracético Dissódico (EDTA) é o agente quelante mais utilizado na endodontia e age sequestrando íons cálcio dos tecidos duros, como a dentina, promovendo desmineralização e expondo os túbulos dentinários dessas estruturas após a instrumentação (SOARES; GOLDBERG, 2011). Essa ação se dá pela alta capacidade de fixar íons cálcio em sua estrutura (SOARES; GOLDBERG, 2011). O EDTA possui ligações bivalentes de oxigênio que quando em contato com a dentina, incorpora o cálcio. Assim é formando uma cadeia heterocíclica que tem como produto final o quelato de cálcio (LOPES; SIQUEIRA JR., 2010). Uma desvantagem do EDTA é que seu uso pode causar danos ambientais advindos de seus compostos residuais, já que sua produção se dá com base em etilenodiamina, formaldeído e cianeto de sódio (LI *et al.*, 2017).

O uso do EDTA no interior dos canais radiculares deve ser de no mínimo 1 minuto para que ocorra uma remoção satisfatória da *smear layer* (SAITO *et al.*, 2008). A literatura mostra que uma irrigação final de 5mL de solução de EDTA durante 3 minutos consegue remover de forma eficaz a lama dentinária presente após a instrumentação (TEIXEIRA; FELIPPE; FELIPPE, 2005; MELLO *et al.*, 2010). Além disso, o EDTA quando usado por um tempo exacerbado, pode reduzir a resistência a fratura (UZUNOGLU *et al.*, 2012). O EDTA pode gerar amolecimento da dentina, alargamento dos túbulos dentinários e desnaturação das fibras colágenas (GARBEROGLIO; BECCE, 1994). O uso adequado dessa solução provoca desmineralização com profundidades de 20 a 30 micrometros em 5 minutos (FEHR; ÖTSBY, 1963).

Segundo Souza (2018) quando analisado para fins de descontaminação, o EDTA possui baixa ação antimicrobiana, principalmente contra *Enterococcus faecalis*. Apresenta resultado mais favorável em bacilos anaeróbios estritos produtores de pigmentos negros (LOPES; SIQUEIRA JR., 2010). Mas estudos realizados por

Giardino *et al.* (2019; 2020) e Keskin *et al.* (2021) demonstraram que após o preparo químico mecânico sua ação contra *Enterococcus faecalis* é relevante.

Giardino *et al.* (2019) compararam a efetividade antimicrobiana do EDTA em protocolos de irrigação final contra *Enterococcus faecalis*. Vinte e seis dentes unirradiculares foram selecionados para contaminação dos túbulos dentinários. Os canais foram instrumentados até o instrumento X3 do sistema Protaper Next, contaminado com *Enterococcus faecalis* em protocolo de 5 dias com uso de centrifugação e preparados para uso dos protocolos. Os grupos foram distribuídos: 5mL de NaOCl 5% por 5 minutos e 2 mL de EDTA 17% por 2 minutos; 5mL de NaOCl 5% associado a 0,45g de Ácido Etidrônico (AE). Após uso de NaOCl, foi realizado neutralização com tiosulfato de sódio 5% por 5 minutos. Os dentes foram corados com kit LIVE/DEAD para análise em Microscopia Confocal de Varredura a Laser (MCVL) afim de conferir a viabilidade bacteriana. Os resultados demonstraram que o uso de NaOCl associado ao AE apresentou menor quantidade de bactérias viáveis quando comparado ao grupo que utilizou EDTA. Porém, houve eliminação significativa de *Enterococcus faecalis* nesse grupo, demonstrando que ambos os protocolos apresentam bons resultados.

Outro estudo realizado por Giardino *et al.* (2020) analisou a ação do pó de AE e duas preparações de EDTA contra *Enterococcus faecalis*. Foram realizados testes em quatro grupos: controle positivo; EDTA 17%, ácido etidrônico 9%; EDTA 17% associado a Polipropilenoglicol; EDTA 17% associado a Citramida; e EDTA 17% associado a Polipropilenoglicol e Citramida. Dez microlitros do inóculo foram distribuídos em uma placa de 96 poços e, em seguida, adicionou-se 90µL das soluções testadas para a análise de concentração mínima e máxima. Placas de 24 poços foram contaminadas com *Enterococcus faecalis* com concentração de  $10^7$  de UFC/mL para análise em MCVL nos períodos de 1, 3 e 5 minutos. Os resultados demonstraram que o EDTA foi efetivo apenas com associação ao polipropilenoglicol, cetramida ou ambos, concluindo que sua ação contra *Enterococcus faecalis* é potencializada combinados a agentes tensoativos.

O AE é um bifosfonato usado inicialmente para o tratamento da doença de Paget. É utilizado de forma oral e intravenosa, sendo capaz de reduzir ou inibir a reabsorção óssea por uma série de mecanismos celulares (DUNN; FITTON; SORKIN,

1994). AE possui uma alta capacidade de interagir com a hidroxiapatita de cálcio presente nos tecidos duros, limitando sua ação quase que exclusivamente a esse tipo de tecido (DUNN; FITTON; SORKIN, 1994).

Com a limitação do NaOCl em remover a parte inorgânica da *smear layer*, estudos iniciais têm sido realizados para avaliar a redução de biofilme bacteriano utilizando o AE dissolvido em NaOCl 2,5% (NaOCl/AE). Essa mistura tem sido utilizada durante a instrumentação e como agente irrigante final em superfície de blocos de dentina e em túbulos dentinários (ARIAS-MOLIZ *et al.*, 2014; ARIAS-MOLIZ *et al.*, 2016; KESKIN; KELEŞ; SARĐYĐLMAZ, 2021). Trabalhos demonstraram que houve ação considerável dessa substância na descontaminação contra *Enterococcus faecalis* quando usado de forma direta sobre o biofilme (ARIAS-MOLIZ *et al.*, 2014; ARIAS-MOLIZ *et al.*, 2016; TEJADA *et al.*, 2018; KESKIN; KELEŞ; SARĐYĐLMAZ, 2021). Além disso, a associação de NaOCl com AE diminuiu em 20% a presença de cloro livre apenas uma hora após a mistura, alterando sua efetividade bactericida, mas não sua ação quelante, o que teoricamente o torna uma opção para preparo químico mecânico (PQM) do canal radicular e como irrigante final (GIARDINO *et al.*, 2019).

Arias-Moliz *et al.* (2014) analisaram a ação contra *Enterococcus faecalis* de quatro irrigantes: NaOCl 2,5%; NaOCl 2,5%/AE 9%; clorexidina 2% e ácido peracético 2%. Vinte e cinco blocos de dentina foram confeccionados a partir de sete molares humanos, contaminados com inóculo de *Enterococcus faecalis* por 5 dias, tendo o meio trocado a cada dois dias. Os blocos de dentina foram distribuídos de forma randomizada nos grupos e então foi realizado os protocolos com 100µL de solução por três minutos. Foram corados posteriormente com kit LIVE/DEAD para análise da viabilidade bacteriana. Houve maior redução bacteriana nos grupos NaOCl 2,5% (88,17%) e NaOCl 2,5%/AE 9% (86,32%) não apresentando diferença estatística entre eles. O ácido peracético 2% apresentou redução de 50,45%, enquanto clorexidina 2% demonstrou a menor redução, com 26,44%.

Morago *et al.* (2016) avaliaram a ação da combinação de NaOCl/AE na atividade antimicrobiana em dentina infectada. Vinte um pré-molares foram selecionados, descoroados na junção cimento-esmalte e padronizados a 4mm de comprimento. Uma broca Gates Glidden n°4 foi utilizada para alargar o canal radicular e após, os espécimes foram contaminados com *Enterococcus faecalis* em protocolo de 5 dias encubados a 37°C em estufa. Trinta corpos de prova foram distribuídos em

6 grupos: NaOCl 2,5% sem *smear layer*; NaOCl 2,5%/AE 9% sem *smear layer*; NaOCl 2,5% com *smear layer*; NaOCl 2,5%/AE 9% com *smear layer*; água destilada e água destilada com *smear layer*. Cinquenta microlitros de substância foram dispensados sobre as paredes do canal radicular por 3 minutos e os grupos com NaOCl foram inativados posteriormente com tiosulfato de sódio 5%. Após, os dentes foram corados com o kit LIVE/DEAD para avaliar quantidade de bactérias viáveis. Na presença de *smear layer*, os grupos com NaOCl não apresentaram diferença estatística entre si. Sem a presença de *smear layer*, NaOCl 2,5%/AE 9% apresentaram maior quantidade de bactérias inviáveis, concluindo que a ação da combinação das soluções não sofreu alteração na presença de *smear layer*.

Afim de comparar a ação antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis* de diversas concentrações de NaOCl, Ariaz-Moliz *et al.* (2016) utilizaram 60 blocos de dentina (2 X 2 X 1,2mm) contaminados após protocolos de 5 dias em centrifugação. Os espécimes foram distribuídos nos grupos: NaOCl 1%; NaOCl 1%/AE 9%; NaOCl 2,5%; NaOCl 2,5%/AE 9%; AE 9%; e grupo controle com água destilada. Outros seis grupos foram utilizados igualmente aos grupos anteriores, porém com pó de dentina (10mg/100mL). Os blocos de dentina ficaram submersos por 3 minutos nas soluções, sendo corados com kit LIVE/DEAD e levados para análise em MCVL. Os resultados demonstraram que a presença de pó de dentina diminuiu a quantidade de cloro ativo e pH em todas as soluções e tempos de contato. Além disso, todos os grupos com NaOCl apresentaram grande redução de biofilme de *Enterococcus faecalis* comparado ao grupo controle, exceto NaOCl 1% na presença de pó de dentina. Concluíram que NaOCl 2,5%/AE 9% não perde sua ação após 3 minutos em contato com *Enterococcus faecalis*, sendo uma possível solução para uso em Endodontia.

Tejada *et al.* (2018) analisaram a influência de restos de dentina e tecido orgânico nas propriedades de soluções do NaOCl. Para tal, pedaços de carne bovina (2 X 2 X 4mm) foram utilizados para simular tecido pulpar e o pó de dentina radicular foi obtido de dentes humanos. Duas concentrações de pó de dentina foram utilizadas nesse estudo: 10mg/mL e 100mg/mL de solução. Também foram utilizados 60 blocos de dentina (2 X 2 X 1,2mm), contaminados com *Enterococcus faecalis* em protocolo de 5 dias. Os espécimes foram distribuídos em 12 grupos de acordo com a solução irrigadora utilizada (NaOCl 2,5%; NaOCl 2,5%/AE 9%; AE 9%; e solução salina 0,9%),

todas testadas sozinhas, na presença de tecido orgânico e presença de pó de dentina mais tecido orgânico. Os grupos ficaram sob ação das substâncias por 3 minutos, e os que apresentavam NaOCl foram inativados com tiosulfato de sódio 5% por 5 minutos. Após, foram lavados com solução salina estéril, corados e analisados em MCVL. A maior perda de cloro ativo ocorreu quando a solução ficava em contato com tecido orgânico e pó de dentina em altas concentrações. Houve redução de dissolução de tecido nos grupos NaOCL 2,5 e NaOCl 2,5%/AE 9% na presença de pós de dentina após 3 e 10 minutos. Após 10 minutos, com ou sem pó de dentina, NaOCl 2,5%/AE 9% dissolveu menos tecido orgânico. Também houve maior redução do biofilme bacteriano nos grupos com NaOCl sem diferença entre ambos. Com esses dados, concluíram que a presença de debris e tecido orgânico altera a concentração de cloro livre nas soluções de NaOCl 2,5% e NaOCl 2,5%/ AE 9%, diminuindo a capacidade de dissolução tecidual e atividade antimicrobiana em curto prazo.

Morago *et al.* (2021) testaram diferentes substâncias e protocolos de irrigação final contra *Enterococcus faecalis*. Em seu estudo, foram utilizados 66 dentes unirradiculares que foram contaminados com *Enterococcus faecalis* em um protocolo de 5 dias. Os espécimes foram distribuídos nos seguintes grupos de acordo com a substância irrigadora: água destilada durante e após instrumentação; NaOCL 2,5% durante a instrumentação; NaOCl 2,5%/AE 9% durante e após a instrumentação; e NaOCl 2,5% durante a instrumentação seguido de EDTA 17%. Os espécimes foram então instrumentados com a sequência Protaper até o instrumento F3, irrigando com 1mL de solução por minuto. Nos protocolos com uso de NaOCl, foi utilizado 5mL de tiosulfato de sódio por 5 minutos para neutralização de sua ação. Após corados com kit LIVE/DEAD, foram levados para análise em MCVL. Os resultados demonstraram que houve concentração de bactérias não viáveis similar nos grupos NaOCl 2,5% (72,52%), NaOCl 2,5%/AE 9% (70,69%) e NaOCl 2,5%/EDTA 17% (79,86%), não apresentando diferença significativa entre eles. Já na análise de remoção de *smear layer* em microscopia eletrônica de varredura, NaOCL 2,5%/AE 9% apresentou 90,41% de túbulos dentinários expostos, maior valor encontrado e diferente estatisticamente de NaOCl 2,5%/EDTA 17%, que obteve 76,54% de túbulos expostos. Dessa forma, concluíram que NaOCL 2,5%/AE 9% e NaOCl 2,5%/EDTA 17% apresentam excelente remoção de *smear layer* e redução microbiológica, com maiores resultados para o primeiro grupo.

Outros benefícios que o uso do AE apresenta quando comparados ao EDTA é o aumento da resistência a fratura do elemento dentário (DOMINGUEZ *et al.*, 2018; ULUSOY *et al.*, 2021); maior remoção da *smear layer* presente no terço apical (ERIK; ORHAN; MADEN, 2019); melhor adaptação marginal ao cimento endodôntico (ULUSOY; ZEYREK; ÇELIK, 2017); e melhor adesão de materiais utilizados para o selamento de perfurações (BARRIO *et al.*, 2020). Ademais, o uso combinado desses compostos foi capaz de dissolver tecido orgânico durante o preparo radicular, tendo o poder de dissolução do NaOCl pouco diminuído quando associado ao AE (TARTARI *et al.*, 2014). Quando usado em procedimentos de revascularização, houve ação similar ao EDTA no que diz respeito a proliferação celular (SUNGUR *et al.*, 2018).

O Ácido Glicólico (AG) é uma substância utilizada principalmente na dermatologia, em protocolos para *peeling* químico (RAJARATNAN *et al.*, 2010). Pertence ao grupo de Alfa Hidróxiácidos (AHAs) e, dentro dessa família, é a estrutura mais simples, derivada da cana-de-açúcar. Possui ação mais difusa por apresentar apenas duas moléculas de carbono em sua estrutura química, o que o torna uma molécula menor e com facilidade de absorção no local de sua aplicação (ALMEIDA, 2007; BRODY, 2009;). Quando usado na pele, aumenta a diferenciação das células em fibroblastos e, conseqüentemente a produção local de colágeno (MOON *et al.*, 1999; FURUKAMA; YAMAMOTO, 2006; HASHIM, 2014;).

Cecchin *et al.* (2018) avaliaram, *in vitro*, o condicionamento ácido do AG 35% em esmalte e dentina comparado ao ácido fosfórico 35% (AF). Os protocolos foram realizados em esmalte polido de incisivos e oclusal de terceiros molares e com substâncias puras, manipuladas em laboratório até alcançarem a concentração desejada, evitando assim aditivos de formulações comerciais. Na avaliação de microdureza os dentes foram condicionados de forma passiva por 30 segundos e a avaliação do condicionamento de superfície foi realizado de forma ativa e passiva pelo mesmo período. Na avaliação de microdureza, o AG obteve valores melhores quando comparado ao AF em esmalte e sem diferença estatística em dentina. Quanto ao condicionamento ácido de superfície e resistência de união, os valores foram similares entre si. Esses resultados tornam o AG um potencial agente para uso dentro da clínica odontológica.

Toledo (2018) também avaliou a capacidade de condicionamento do AG em dentina e esmalte. Foram utilizados diversos ácidos (glicólico, fosfórico, tartárico, gluconolactona e glucônico) com concentrações de 37%, lavados e armazenados em ambiente úmido. Nos testes de microdureza, o AG apresentou maiores valores em esmalte e similar aos demais ácidos em dentina. Já em profundidade de desmineralização, demonstrou valores menores. Concluíram que o AG pode ser uma alternativa de solução para condicionamento ácido, diminuindo a chance de uma ação excessiva e reduzindo a alteração das estruturas dentinárias orgânicas.

Bello *et al.* (2019) utilizaram diversas concentrações de AG para uso no interior do canal radicular como agente quelante. Eles observaram que nas concentrações de 5% e 10% não houve alteração da microdureza dentinária quando comparados ao EDTA 17%. O AG 17% teve sua ação intensificada, aumentando a rugosidade superficial com valores maiores que o EDTA 17%. Ademais, a remoção de *smear layer* em todas as concentrações foi similar ao EDTA 17% quando avaliado os terços cervical, médio e apical (CORREIA, 2018; BELLO *et al.*, 2019). Outros fatores que podem ser favoráveis ao uso do AG 17% é que ele possui efeito citotóxico menor que o EDTA 17% (BELLO *et al.*, 2019); apresenta pH estável em diferentes temperaturas ao longo do tempo (BELLO *et al.*, 2020), apresenta eficácia maior na remoção de medicação intracanal associado a ativação ultrassônica (KESKIN; KELEŞ; SARĐYĐLMAZ, 2021) e a longo prazo demonstra valores de resistência de união similares ao AF (VIDAL *et al.*, 2021).

Gambin *et al.* (2020), analisaram a eficácia de agentes quelantes na descontaminação de canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis*. Utilizaram 77 dentes unirradiculares e após preparo o cervical com broca largo n°2 e instrumentação dos canais radiculares Protaper até o instrumento F4, os dentes foram esterilizados e contaminados com *Enterococcus faecalis*, em protocolo de 15 dias. Na sequência, os dentes foram irrigados com as substâncias testadas (NaOCl 6%, NaCl 0,9%, EDTA 17%, AG 10%, AG 17%, AG 25% e ácido cítrico 17%) durante 3 minutos com renovação a cada minuto. Foram realizadas coletas (inicial e final) e plaqueadas em BHI ágar que foram armazenadas em estufa 37°C durante 24 horas para posterior contagem das UFCs. Como resultado, obtiveram que AG 10% reduziu a quantidade bacteriana em 92,76%, AG 17% reduziu 96,88% e AG 25% reduziu 95,46%. Esses

valores foram menores apenas comparado ao grupo NaOCl 6%, que obteve redução de 99,37%, demonstrando excelente ação antimicrobiana do AG.

Ainda sobre a ação antimicrobiana do AG, Souza *et al.* (2021) avaliaram o AG com e sem ativação de ultrassom. Para isso, setenta dentes unirradiculares foram selecionados, instrumentados até lima manual #35 e contaminados com *Enterococcus faecalis* durante 15 dias. Após, foram realizados os protocolos finais de irrigação com 1mL de solução teste por 1 minuto dentro dos canais radiculares e posterior lavagem com 5mL de água destilada. No grupo onde usou-se ultrassom, a substância foi ativada durante 1 minuto com potência de 10% do aparelho utilizado. Após, cones de papel absorvente foram inseridos no canal radicular por 30 segundos, levados em diluição seriada até  $10^{-3}$ , plaqueadas em duplicatas e levadas em estufa a 37°C para posterior contagem das UFCs. Os resultados demonstraram que houve uma redução bacteriana de 66,46% com irrigação convencional e 84,69% com uso de ativação ultrassônica, sendo superiores ao EDTA nas mesmas condições. Na análise de viabilidade bacteriana, trinta e cinco dentes foram utilizados com contaminação pelo protocolo de Andrade *et al.* (2015). Após contaminação, procedeu os protocolos de irrigação final. O kit Live/DEAD foi utilizado para corar as bactérias viáveis. Como resultado, AG com irrigação convencional reduziu em 94,33% a carga microbiana, enquanto AG com ativação teve redução de 75,12%, também com valores superiores ao EDTA.

Visto que alguns dos objetivos da Endodontia é realizar a instrumentação, limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares e novas soluções irrigadores apresentadas apresentam potencial antimicrobiano e seu uso nos protocolos clínicos, o objetivo desse estudo foi avaliar e comparar a eficiência do AG e do NaOCl/AE na desinfecção do sistema de canais radiculares inoculados com *Enterococcus faecalis* em diferentes protocolos de irrigação final, associado ou não ao uso do NaOCl 2,5% como substância irrigadora.

## 2 OBJETIVOS E HIPÓTESE

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar e comparar a efetividade do EDTA, NaOCl e do AG na desinfecção do sistema de canais radiculares inoculados com *Enterococcus faecalis* em diferentes protocolos de irrigação final associado ou não ao uso do NaOCl 2,5% como substância irrigadora.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar a redução microbiana após o preparo químico mecânico.
- ✓ Avaliar a efetividade do AG, NaOCl/AE e EDTA na redução microbiana dos canais radiculares após instrumentação recíprocante com solução de NaOCl 2,5%;
- ✓ Avaliar a efetividade do AG, NaOCl/AE e EDTA na redução microbiana dos canais radiculares, após instrumentação recíprocante com solução de soro fisiológico;

### 2.3 HIPÓTESE

A hipótese nula testada foi de que as diferentes soluções testadas nos protocolos finais de irrigação não apresentavam diferença quanto sua ação antibacteriana contra *Enterococcus faecalis*.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto deste trabalho foi aprovado ao Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos (CEPSH), da Universidade Federal de Santa Catarina e aprovado sob o parecer 4.063.344 (ANEXO A).

#### 3.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA

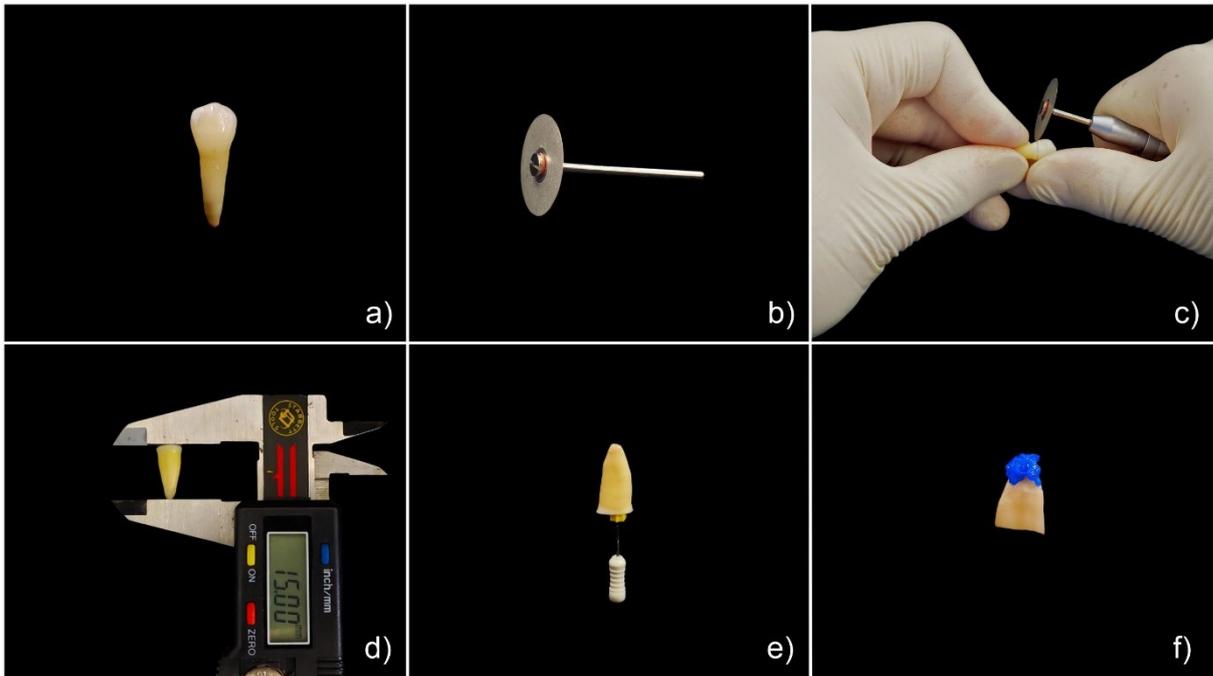
Neste estudo experimental *ex vivo*, foram selecionados e analisados 98 pré-molares inferiores permanentes humanos, extraídos de pacientes não relacionados a pesquisa. Os dentes foram doados pelo Biobanco de Dentes Humanos da Universidade do Oeste de Santa Catarina (BDH/UNOESC) e por clínicas particulares, onde os doadores assinaram o Termo de Doação (APÊNDICE A) e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B).

Os dentes selecionados apresentavam canais únicos, retos e com rizogênese completa, confirmados após radiografias periapicais iniciais. Foram descartados desse estudo dentes cariados, com trincas, calcificações, qualquer tipo de reabsorção e os casos em que não foi possível obter a patência do forame apical. Após a seleção, os dentes foram distribuídos igualmente e de forma randômica em cinco grupos (n=14), sendo um grupo controle e seis grupos experimentais.

O cálculo amostral foi realizado com auxílio do software G\*Power 3.1.9.4 (Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf, Alemanha), utilizando o parâmetro de cálculo “*a priori*” para o teste ANOVA de medidas repetidas. O poder estatístico foi estabelecido em 80%, com nível alfa de 5%, e tamanho de efeito 1.0. Com isso, o número mínimo estipulado para cada grupo foi de 14 dentes.

#### 3.2 PREPARO DOS ESPÉCIMES E INSTRUMENTAÇÃO DOS CANAIS RADICULARES

Como desinfecção inicial, os dentes foram armazenados em NaOCl 1% (Asfer, São Caetano do Sul, SP, Brasil) por 1 hora. Depois de hidratados em água destilada suas coroas foram seccionadas com um disco diamantado dupla face nº 7016 (American Burs, Palhoça, Santa Catarina, Brasil) para a padronização de 15mm de comprimento (Figura 1-A a 1-D).



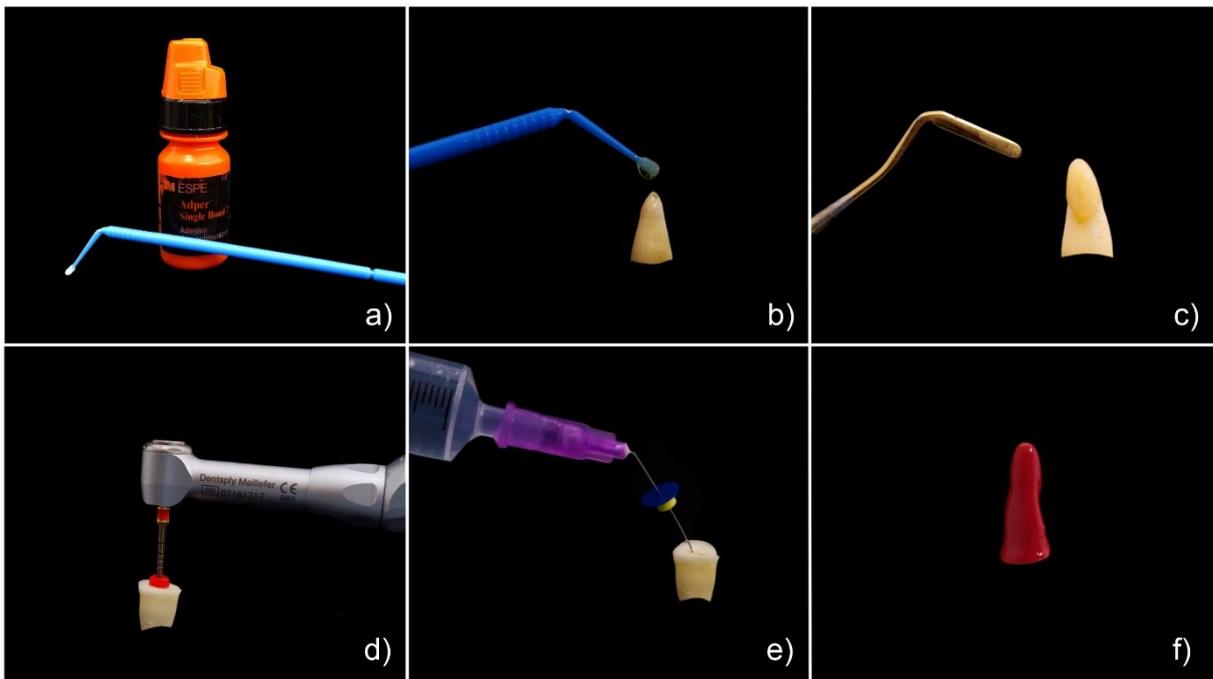
**Figura 1.** Dente utilizado para experimento (a); disco diamantado dupla face 7086 (b); remoção da coroa (c); medição com paquímetro digital (d); patência com lima #15 manual (e); condicionamento ácido da porção externa apical (f).

A patência de cada espécime (Figura 1-E) foi realizada com limas Tipo K #10 e #15 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça). A remoção da *smear layer* foi realizada com EDTA 17% (Fórmula & Ação, São Paulo, SP, Brasil) por 3 minutos, sendo irrigados posteriormente com água destilada.

Com o propósito de padronizar ao máximo possível o diâmetro e conicidade, os canais radiculares foram instrumentados antes da contaminação. A odontometria foi realizada com limas tipo K #15 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) até que o instrumento ficasse visível na saída do forame apical. O comprimento de trabalho (CT) foi o mesmo do obtido na etapa de mensuração. Para evitar o extravasamento das soluções irrigadoras e auxiliar e simular um sistema de canais radiculares fechados, a região apical foi restaurada. Para esse procedimento, foi utilizado condicionamento ácido fosfórico 37% (PHS do Brasil, Joinville, SC, Brasil) por 30s (Figura 1-F), seguido de duas camadas de adesivo (3M ESPE, St. Paul, Estados Unidos da América) fotoativado por 30s (Figura 2-A e 2-B) e posterior inserção de resina composta Charisma Classic (Heraeus Kulzer, Alemanha) (Figura 2-C) fotoativada por mais 40s.

O preparo dos canais radiculares foi realizado por um mesmo operador usando instrumento de X Wire NiTi 25.08 e 40.06 (Universo Odonto, São Paulo, Brasil) (Figura 2-D), intercalados com 2mL de solução de NaOCl 2,5% (Asfer, São Caetano do Sul,

SP, Brasil), até que o instrumento alcançasse o CT. Após a instrumentação, os canais radiculares receberam 3mL de EDTA 17% (Figura 2-E) por 3 minutos para remoção de *smear layer* e foram irrigados com água destilada. Para selar a superfície externa das raízes, foram aplicadas duas camadas de esmalte de unhas vermelho (Colorama, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) seguido de secagem por 48 horas (Figura 2-F). Depois, eles foram autoclavados a 121°C por 15 minutos.

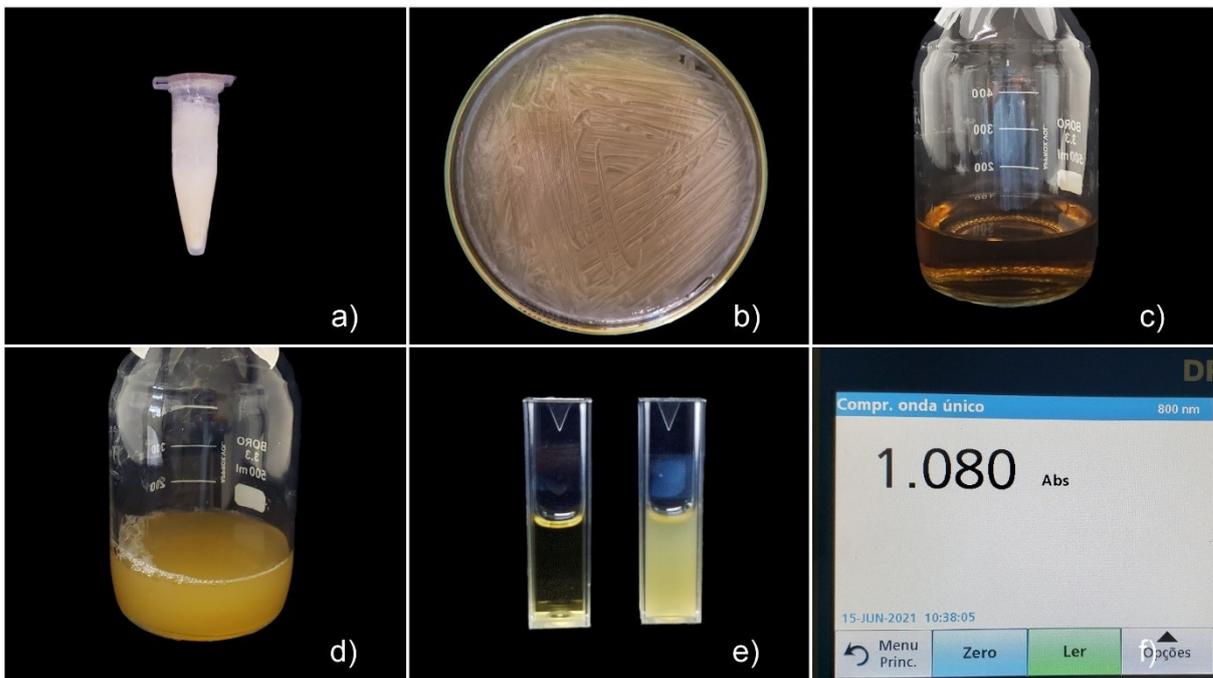


**Figura 2.** Adesivo Single Bond 2 (a); uso do adesivo na região apical (b); resina utilizada para simular sistema de canais fechados (c); preparo inicial com lima recíprocante 25.08 (d); uso de EDTA (e); dente após selamento externo (f).

### 3.3 PREPARO DO INÓCULO E CONTAMINAÇÃO POR ENTEROCOCCUS FAECALIS

Para a contaminação das raízes, foram utilizadas culturas puras de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Figura 3-A) em caldo de *Brain Hearth Infusion* (BHI). O *Enterococcus faecalis* foi subcultivado em BHI Ágar (Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil) e incubado a 37 °C em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, por 24 horas. Em seguida, foi transferido para um novo tubo contendo BHI caldo estéril (BHI, Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil) e incubado por mais 24 horas (Figura 3-C e 3-D), sob mesmas condições.

Decorrido o tempo de incubação, as colônias isoladas foram transportadas para tubos contendo 5,0 mL de BHI, respeitando o padrão de concentração 1,0 da escala McFarland ( $3,0 \times 10^8$  bactérias/ mL), com absorvância de 800nm através do espectrofotômetro (Hach, Loveland, Colorado, Estados Unidos da América) (Figura 3-E e 3-F). O protocolo de contaminação dos espécimes foi realizado em 5 dias e foi baseado em estudo prévio (ANDRADE *et al.*, 2015).



**Figura 3.** ATCC 29212 congelada (a); placa com BHI ágar após reativação (b); BHI caldo estéril (c); inóculo preparado (d); microtubos para ajuste de concentração bacteriana (e); ajuste da concentração em espectrofotômetro (f).

No primeiro dia, os espécimes previamente padronizados foram colocados em microtubos *Eppendorf* com 800µL de BHI caldo estéril. Realizou-se um banho ultrassônico, por 15 minutos, para permitir maior penetração do meio de cultura nos túbulos dentinários antes do processo de contaminação. O BHI caldo foi removido após o banho ultrassônico e 800µL de inóculo (Figura 4-A) foi adicionado aos microtubos contendo as amostras e centrifugados a 1.400, 2.000, 3.600 e 5.600g (Hsiangtai Machinery Ind.CO, Taisan Hsiang, Taipei Hsien, Taiwan), por 2 ciclos de 5 minutos cada (Figura 4-B e 4-C). Entre cada centrifugação, um novo inóculo bacteriano era adicionado aos microtubos, sendo o inóculo utilizado durante a centrifugação descartado. Após todos os ciclos de centrifugação, os espécimes foram incubados, em aerobiose, a 37°C por 24 horas.

No segundo dia de contaminação, os microtubos contendo os espécimes foram agitados em vórtex por 10 segundos e o inóculo descartado. Adicionou-se 1mL de BHI caldo estéril e realizado um ciclo de centrifugação a 3.600g por 5 min a 25°C com nova incubação em aerobiose, a 37°C, por 24 horas.



**Figura 4.** Dente em inóculo (a); protocolos de centrifugação (b e c).

No terceiro dia foi utilizado um inóculo fresco de *Enterococcus faecalis*, preparado anteriormente e, novamente, realizado ciclos de centrifugação igualmente ao primeiro dia. No quarto dia, os procedimentos realizados seguiram idênticos ao segundo dia de contaminação. No quinto dia, os espécimes foram removidos dos tubos e preparados para o uso dos protocolos testados.

### 3.4 GRUPOS E PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO FINAL

Após contaminação, os dentes passaram pelo reparo dos canais radiculares com lima M Wire NiTi 50.05 (Universe Odonto, São Paulo, Brasil) em movimento recíprocante. Foram realizados três movimentos de bicada até o CT, intercalados com solução de NaOCl 2,5%. Em seguida, os 98 dentes foram distribuídos, de forma randomizada, sendo 14 dentes para cada grupo:

Grupo NaOCl/EDTA: uso de 4mL de NaOCl 2,5% 3mL de EDTA 17%.

Grupo NaOCl/AE: uso de 4mL de NaOCl 2,5% e 3mL de AE.

Grupo NaOCl/AG: uso de 4mL de NaOCl 2,5% e 3mL de AG 17%.

Grupo Soro/EDTA: uso de 4mL de soro fisiológico e 3mL de EDTA 17%.

Grupo Soro/AE: uso de 4mL de soro fisiológico e 3mL de AE.

Grupo Soro/AG: uso de 4mL de soro fisiológico e 3mL de AG 17%.

Grupo Controle (GC): uso de 4mL de soro fisiológico e irrigação final contínua com 3mL de água destilada durante 3 minutos;

Todas as substâncias utilizadas para os protocolos de irrigação final, após a instrumentação, permaneceram no interior do canal por 1 minuto, sendo trocadas a cada minuto. O tempo total dessas substâncias foi de 3 minutos. Além disso, os grupos que tiveram ação de NaOCl foram neutralizados com Tiosulfato de Sódio 5% por 5 minutos. Para irrigação foram utilizadas agulhas com saída lateral 30mmX25mm (MK Life, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) calibradas a 2mm do CT com movimentos de vai-e-vem e amplitude de 2mm a 3mm.

**Tabela 1.** Distribuição dos grupos conforme os protocolos finais de irrigação utilizados.

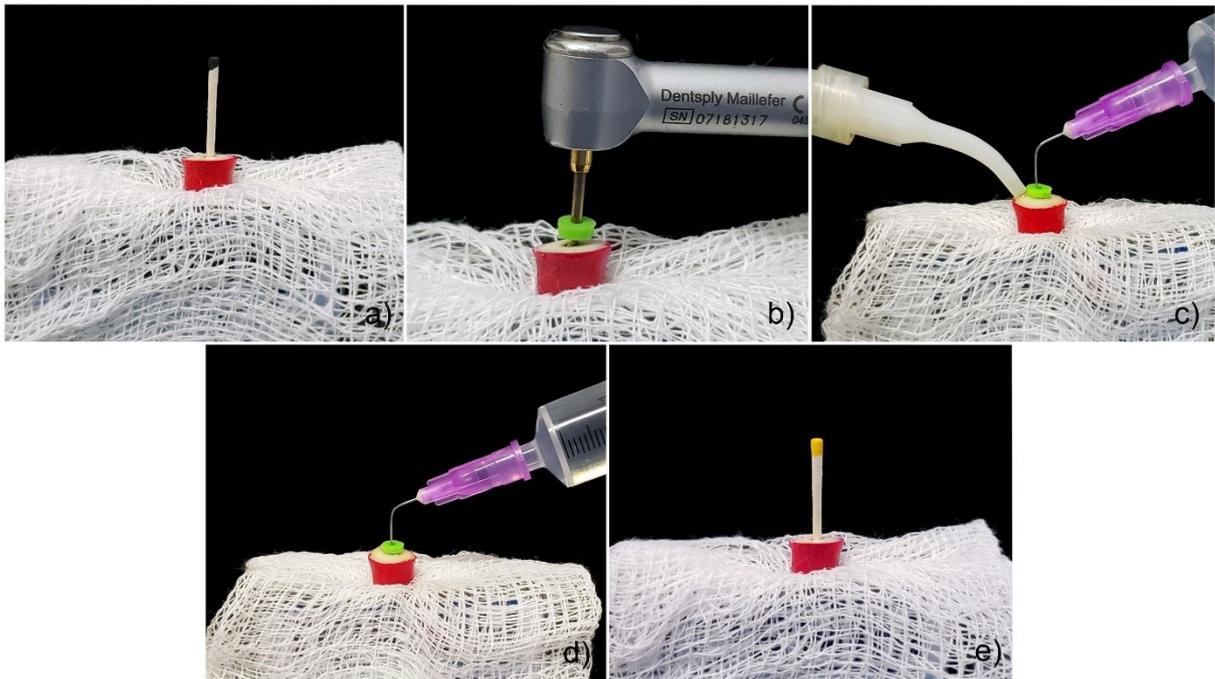
	<b>N</b>	<b>V (ML)</b>	<b>T (S)</b>	<b>AGENTE NEUTRALIZANTE</b>
<b>GC</b>	14	3	180	-
<b>NAOCL/EDTA</b>	14	3	180	Tiosulfato de sódio 5%
<b>NAOCL/AE</b>	14	3	180	Tiosulfato de sódio 5%
<b>NAOCL/AG</b>	14	3	180	Tiosulfato de sódio 5%
<b>SORO/EDTA</b>	14	3	180	-
<b>SORO/AE</b>	14	3	180	Tiosulfato de sódio 5%
<b>SORO/AG</b>	14	3	180	-

n: número de dentes; v: volume de solução utilizada; t: tempo de aplicação.

### 3.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Foram realizadas três coletas microbiológicas em diferentes etapas PQM, sendo a primeira antes da instrumentação; a segunda após a instrumentação dos canais com a lima 50.05; e a terceira ao final do protocolo de irrigação testado (Figura 5).

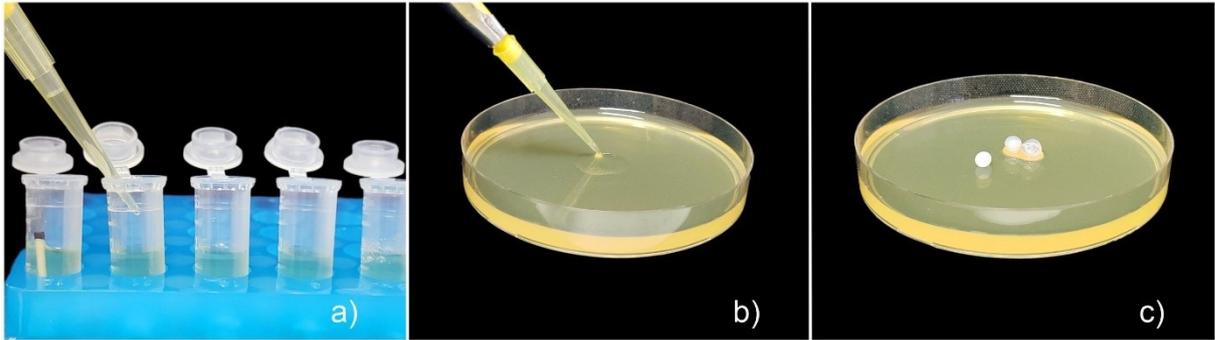
Para a realização das coletas, uma ponta de papel absorvente estéril R40 (VDW, Munique, Alemanha) foi colocada no interior do canal radicular, atingindo o CT. A mesma ficou em contato com as paredes radiculares propositalmente por 1 minuto. Após, os cones foram depositados em microtubos Eppendorf individuais contendo 1000µl de BHI caldo estéril (Figura 6-A).



**Figura 5.** Coleta inicial (a); reparo recíproco 50.05 (b); irrigação com NaOCl 2,5% (c); uso da solução quelante (d); coleta final após protocolos (e).

### 3.6 PROCESSAMENTO MICROBIOLÓGICO DAS AMOSTRAS (DILUIÇÃO, CONTAGEM DAS UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS - UFC)

As amostras realizadas foram processadas pelo método tradicional de cultura no Laboratório de Genética Molecular de Bactérias da Universidade Federal de Santa Catarina. Imediatamente após cada coleta, as amostras foram agitadas (Vortex Basic, Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil) por 1 minuto e diluídas em série 1/10, 1/100, 1/1000 e 1/10000 em BHI estéril (Figura 6-A). Uma alíquota de 100µL da diluição  $10^{-2}$  e  $10^{-4}$  foram plaqueadas em duplicatas em BHI ágar (Figura 6) e incubadas em estufa de CO<sub>2</sub> a 37° C por 48 horas. Após o período de incubação, as colônias de microrganismos presentes nas placas foram contadas determinando-se as UFCs. A pureza das culturas foi confirmada através da morfologia das colônias, coloração de Gram e teste de catalase.



**Figura 6.** Cone da coleta em BHI estéril e diluição seriada (a); plaqueamento da alíquota após as diluições (b e c).

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Previamente à escolha dos testes estatísticos foi verificada a normalidade dos dados por meio do teste Shapiro-Wilk, dividindo-se o quadrado da combinação linear dos valores da amostra de cada grupo pela estimativa simétrica usual de variância. Sendo que os testes apontaram que a normalidade não foi alcançada ( $p < 0,05$ ), os dados de contagem de UFC/mL foram submetidos a transformação logarítmica. Dessa maneira, testes paramétricos foram adotados. Para as comparações intragrupo foi empregada a Análise de Variância (ANOVA); as comparações intergrupo foram realizadas utilizando o teste t de Student. Todas as análises foram realizadas pelo software Biostat 5.3 e com nível de significância de 5%.

#### 4 RESULTADOS

A Tabela 2 apresenta os valores médios (Log10) de UFC/mL em cada grupo e nas diferentes coletas realizadas.

**Tabela 2.** Valores médios (Log10) de UFC/mL em cada grupo nas diferentes coletas.

Grupo	C1	C2	C3
NaOCI/EDTA	5,95 ( $\pm 1,36$ )Aa	0,39 ( $\pm 0,12$ )Ab	0,28( $\pm 0,16$ )Bb
NaOCI/AE	6,61 ( $\pm 0,35$ )Aa	1,23 ( $\pm 0,83$ )Bb	0 ( $\pm 0,00$ )Ac
NaOCI/AG	5,86 ( $\pm 0,71$ )Aa	1,09 ( $\pm 0,88$ )Bb	1,05( $\pm 0,50$ )Cb
Soro/EDTA	6,55 ( $\pm 0,09$ )Aa	3,41 ( $\pm 0,34$ )Cb	2,59 ( $\pm 0,13$ )Dc
Soro/AE	6,67 ( $\pm 0,04$ )Aa	3,03 ( $\pm 0,03$ )Cb	2,45 ( $\pm 0,04$ )Dc
Soro/AG	6,68 ( $\pm 0,03$ )Aa	3,04 ( $\pm 0,05$ )Cb	2,47 ( $\pm 0,25$ )Db
GC	6,65 ( $\pm 0,03$ )Aa	3,13 ( $\pm 0,05$ )Cb	2,96 ( $\pm 0,16$ )Db

Coletas (C): C1 – inicial; C2 – após instrumentação; C3 – após uso dos protocolos finais de irrigação. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos na mesma coleta (t Student). Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre as coletas do mesmo grupo (ANOVA).

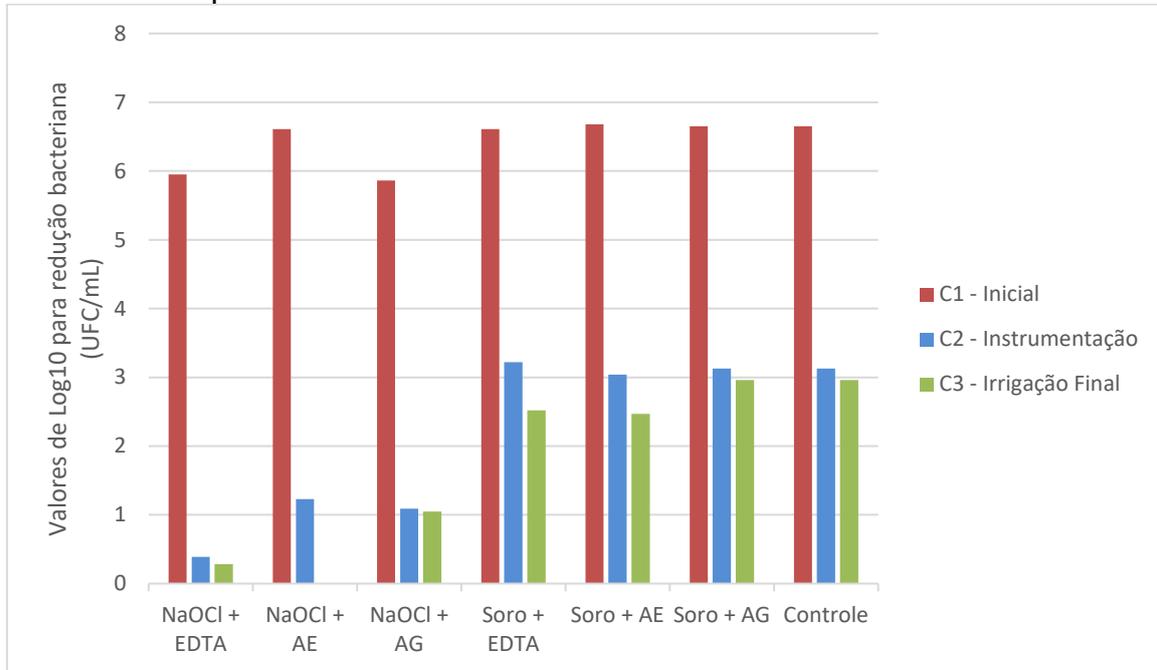
Os valores iniciais de UFC/mL foram semelhantes em todos os grupos testados ( $p > 0,05$ ). Isso demonstra que a contaminação inicial de 1.0 na escala McFarland foi padronizada no protocolo de contaminação. Independente do grupo, houve redução significativa na carga microbiana observada na coleta C2 que foi realizada após instrumentação recíproca com lima 50.05 ( $p < 0,05$ ).

GC ( $p = 0,082$ ) e Soro/AG ( $p = 0,099$ ) obtiveram os resultados com menor desempenho quando comparado aos demais grupos, não apresentando diferença estatística entre eles em C2 ( $p = 0,071$ ) e C3 ( $p = 0,099$ ). Isso demonstra que o AG não conseguiu desempenhar ação antimicrobiana quando utilizado de forma isolada após o PQM. Mesmo com uso apenas de soro fisiológico, o GC apresentou valores semelhantes a Soro/AG em C3.

Quando observado apenas os grupos onde a instrumentação foi realizada com soro fisiológico, todas obtiveram redução com diferença estatística na comparação intragrupos de C1 para C2 ( $p < 0,05$ ). Apenas os grupos Soro/AE e Soro/EDTA obtiveram valores com diferença estatística significativa de C2 para C3 ( $p = 0,028$  e  $p = 0,011$ ), comparando com as demais soluções. Porém, quando analisado os valores entre elas, não evidenciou ser significativo, demonstrando boa ação de ambas contra

*Enterococcus faecalis*. Os valores de UFC/mL referentes aos três diferentes tempos de coletas podem ser melhor visualizados no Gráfico 1.

**Gráfico 1.** Valores médios de Log10 para UFC/mL nos diferentes grupos e nos diferentes tempos de coleta.



Avaliando os grupos onde NaOCl 2,5% foi utilizado durante a instrumentação, todos os grupos apresentaram dados superiores comparando com os que foram utilizado soro fisiológico como irrigante ( $p < 0,05$ ). NaOCl/EDTA demonstrou menor quantidade de UFC/mL em C2 ( $0,39 \pm 0,12$ ) comparando com NaOCl/AG ( $1,09 \pm 0,88$ ) e NaOCl/AE ( $1,23 \pm 0,83$ ), sendo esses últimos semelhantes entre si.

Em C3, os melhores resultados foram alcançados por NaOCl/AE que conseguiu eliminar totalmente as UFC/mL, com diferença para todos os grupos. Em sequência, NaOCl/EDTA obteve bom resultado com  $0,28 (\pm 0,16)$  UFC/mL, seguido de NaOCl/AG com  $1,05 (\pm 0,50)$ .

A Tabela 3 expressa em porcentagem a redução de UFC/mL de todos os grupos testados e nos diferentes tempos de coleta. A redução dos grupos de C1 – C2 oscilou entre 47,93% (Soro/EDTA) e 93,44% (NaOCl/EDTA). Já de C2 – C3, os valores foram de 3,67% (NaOCl/AG) a 100% (NaOCl/AE). Comparando as reduções de C1 – C3, as reduções foram de 55,48% (GC) e 100% (NaOCl/AE).

**Tabela 3.** Valores de redução (%) em cada grupo nas diferentes coletas.

Grupo	C1 – C2	C2 – C3	C1 – C3
NaOCl/EDTA	93,44%	28,20%	95,29%
NaOCl/AE	81,39%	100%	100%
NaOCl/AG	81,40%	3,67%	82,08%
Soro/EDTA	47,93%	24,04%	60,45%
Soro/AE	54,57%	19,14%	63,26%
Soro/AG	54,49%	18,75%	63,02%
GC	52,93%	5,43	55,48%

Os grupos onde foi utilizado NaOCl 2,5% na irrigação durante o PQM tiveram reduções de 81,39% (NaOCl/AE) a 93,44% (NaOCl/EDTA) de C1 – C2 enquanto nos grupos onde foi utilizado o soro fisiológico como irrigante, as reduções foram de 47,93% (Soro/EDTA) a 54,57% (Soro/AE).

As Figuras 7 a 13 representam as UFCs na placa de Petri após as três coletas realizadas e em cada grupo testado nesse estudo. É possível notar visualmente o crescimento uniforme de *Enterococcus faecalis* em C1 de todos os grupos.

A Figura 7 elucida a baixa redução microbiológica de GC. Em C1, as UFC foram incontáveis, tendo redução em C2 após o PQM com soro fisiológico e lima recíprocante 50.06.

**Figura 7.** C1, C2 e C3 do grupo Controle

A Figura 8 nos mostra a grande redução de *Enterococcus faecalis* de C1 – C2, mas ainda apresentaram algumas UFCs. Em C3 a placa não contabilizou UFC após utilização de AE como irrigante final.



**Figura 8.** C1, C2 e C3 do grupo NaOCl/AE.

Nas Figuras 9 e 10 conseguimos avaliar e comparar a ação do NaOCl/AG e NaOCl/EDTA na remoção bactérias. A Figura 9 apresenta em C2 ainda algumas UFCs, sendo reduzidas na última coleta, mas sem diferença estatística. A Figura 10 demonstra a redução com uso de NaOCl/EDTA comparando os três tempos de coleta, conseguindo zerar as UFCs em alguns dentes do grupo.



**Figura 9.** C1, C2 e C3 do grupo NaOCl/AG.

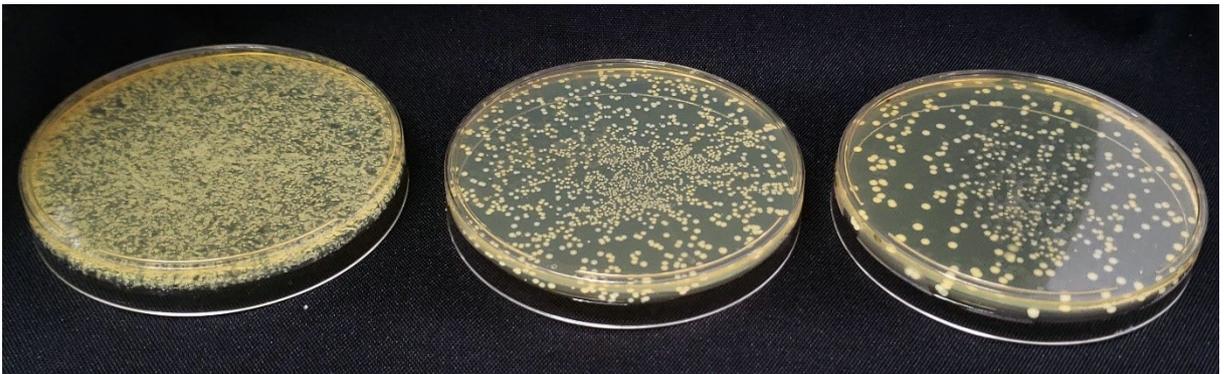


**Figura 10.** C1, C2 e C3 do grupo NaOCl/EDTA.

As Figuras 11, 12 e 13 demonstram a ação das soluções usando a irrigação com soro fisiológico durante a instrumentação e com ação apenas das substâncias utilizadas para irrigação final. Todas as placas em C3 tiveram crescimento de *Enterococcus faecalis*, independente do grupo analisado, com menores valores de UFC para Soro/AE e Soro/EDTA.



**Figura 11.** C1, C2 e C3 do grupo Soro/AE.



**Figura 12.** C1, C2 e C3 do grupo Soro/AG.



**Figura 13.** C1, C2 e C3 do grupo Soro/EDTA.

## 5 DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar *ex vivo* a ação antimicrobiana de soluções quelantes em diversos protocolos de irrigação final associados ou não ao uso do NaOCl 2,5% como substância irrigadora, durante a instrumentação. De acordo com os resultados obtidos, a hipótese nula foi rejeitada, tendo em vista que os grupos apresentaram diferença estatística entre eles e entre os diferentes tempos de coletas dentro do mesmo grupo.

O uso de *Enterococcus faecalis* como agente microbiológico nesse estudo foi estabelecido por ser uma bactéria resistente e estar associado a lesões persistentes, como já descrito por Sedgley; Lennan; Appelbe (2005), Sassone *et al.* (2007), Khalifa *et al.* (2016), Rosen *et al.* (2016),

Todos os grupos apresentaram contaminação inicial homogênea que foi confirmada pela análise estatística dos dados de C1. Esse dado demonstra que o protocolo validado por Andrade *et al.* (2015) e simulado por nós, conseguiu a concentração bacteriana intracanal suficiente para os testes utilizados no nosso estudo. A escolha dessa metodologia de contaminação dos túbulos dentinários foi preconizada por necessitar de um menor tempo de cultivo dos espécimes em meio contaminado e utilizar uma maior concentração de inóculo quando comparado os métodos tradicionais que realiza trocas de meio de cultura durante 7, 15, ou 30 dias (GAMBIN *et al.*, 2020; VILLALTA-BRIONES *et al.*, 2020; GIARDINO *et al.*, 2020; ALMEIDA *et al.*, 2020).

O tempo de ação das soluções quelantes utilizadas foi baseada em estudo prévio de Teixeira, Felipe, Felipe (2005) que avaliou o uso do EDTA em diferentes períodos. Foi observado que 3 minutos foi capaz de remover de forma satisfatória a *smear layer* do terço cervical, médio e apical.

Os grupos que receberam apenas a instrumentação associada ao soro fisiológico foram delineados para apresentar a redução da carga microbiana levando em consideração apenas a instrumentação de C1 para C2 e a ação dos agentes quelantes de C2 para C3. Confirmou-se que a instrumentação reciprocante foi eficaz em promover descontaminação parcial promovida pelo corte de dentina radicular eliminando o biofilme aderido a ele em até 54,49%. Nossos resultados foram semelhantes à de outros trabalhos já realizados que compararam ação de limas de uso único reciprocante com diversos sistemas no mercado, não demonstrando

diferença na redução microbiológica em decorrência da escolha dos instrumentos utilizados (ALVES *et al.*, 2012; DAGNA *et al.*, 2012; SIQUEIRA *et al.*, 2013; MACHADO *et al.*, 2013; BASMACI; ÖZTAN; KIYAN, 2013; NAKAMURA *et al.*, 2015; KARATAŞ *et al.*, 2015; CECCHIN *et al.*, 2018; CARVALHO *et al.*, 2019).

NaOCl/EDTA, NaOCl/AG e NaOCl/AE apresentaram os melhores valores de redução bacteriana da C1 para a C2 quando comparados aos grupos que não utilizaram NaOCl. Isso pode ser explicado pela ação da substância irrigadora associada ao PQM dos canais radiculares. A ação do NaOCl 2,5% fez com que houvesse uma redução de até 93,44% de *Enterococcus faecalis*, reafirmando a eficácia bactericida da solução já estabelecida na literatura (FERRAZ *et al.*, 2001; ESTRELA *et al.*, 2002; DAMETTO *et al.*, 2005). A redução microbiológica expressiva é explicada pela ação de saponificação da solução que reage em sítios enzimáticos, essenciais a sobrevivência dos microrganismos e inativando de forma irreversível por meio de íons hidroxila a reação de cloraminação (ESTRELA *et al.*, 2002).

O grupo NaOCl/AE apresentou os melhores resultados na comparação intergrupos. A concentração de UFC/mL reduziu de 6,61 (C1) para 1,23 (C2), chegando a 0 (C3). Esse resultado pode estar relacionado com o preparo da solução. Seguindo a recomendação do fabricante, a dissolução foi realizada com 40g de AE P.A. para cada 10ml de NaOCl 2,5%. Essa associação permite a perpetuação da efetividade do uso do NaOCl enquanto o AE promove a ação quelante e removendo a *smear layer* das paredes dentinárias.

O uso do AE em protocolos endodônticos já vem sendo descrito na literatura. Ele pode ser usado como solução associada ao NaOCl em diversas concentrações durante a instrumentação ou em protocolos de irrigação final (MORAGO *et al.*, 2016; MORAGO *et al.*, 2018; GIARDINO *et al.*, 2019; GIARDINO *et al.*, 2020). Ariaz-Moliz *et al.* (2015) e Tejada *et al.* (2018) realizaram estudos primários avaliando a remoção de biofilme com uso de NaOCl/AE sobre a superfície de blocos de dentina e ambos os trabalhos mostraram redução significativa do *Enterococcus faecalis*. Morago *et al.* (2016; 2018) também propuseram o uso da solução de NaOCl/AE no interior dos canais radiculares para remoção do biofilme intracanal. Os resultados mostraram que a associação das soluções apresenta maiores reduções de bactérias, corroborando com os resultados obtidos no nosso trabalho.

NaOCl/EDTA apresentou resultados com diferença estatística em C2 quando comparado com NaOCl/AE e NaOCl/AG. Essa diferença não era esperada, tendo em vista que a cada grupo testado uma nova solução de NaOCl 2,5% era utilizada para que não houvesse esse viés. Embora tomado esse cuidado, não se sabe como essas soluções foram armazenadas até serem adquiridas para o estudo. Sabe-se através de estudos já realizados que a estabilidade do NaOCl está relacionada com as condições que ele é armazenado e seu pH. Siqueira *et al.* (2002) demonstrou que o pH das soluções possui um papel importante na estabilidade química e soluções com alto pH possui maior estabilidade. Além disso, o tempo de armazenagem e a temperatura também influenciaram nos resultados (SIQUEIRA *et al.*, 2002).

Mesmo NaOCl/EDTA apresentando redução maior de UFC/mL em C2, NaOCl/AE conseguiu se sobrepôr zerando a contaminação de *Enterococcus faecalis* em C3. Embora essa associação tenha obtido os melhores resultados, faz-se necessário estudos que avaliem se ela apresenta maiores danos a estrutura dentinária, como erosão, diminuição da microdureza, diminuição na adesão do cimento obturador, menor adesão de cimentos utilizados para cimentação de retentores intrarradiculares, entre outros fatores.

Quando comparadas a eficácia apenas do quelante utilizado, sem ação de solução irrigadora na instrumentação, o grupo Soro/EDTA apresentou também valores semelhantes ao grupo Soro/AE. Esses dados corroboram com alguns trabalhos da literatura que associam o uso do EDTA a uma redução de microrganismos relevante em protocolos de irrigação final (MORAGO *et al.*, 2016; MORAGO *et al.*, 2018; GIARDINO *et al.*, 2019; GIARDINO *et al.*, 2020; KESKIN; KELEŞ; SARđYđLMAZ, 2021) e vai de encontro aos resultados obtidos por Souza *et al.* (2018).

O AG já foi utilizado em estudo prévio como agente quelante, promovendo bons resultados na redução de bactérias do canal radicular (GAMBIN *et al.*, 2020). Porém esse estudo levou em consideração apenas o uso da substância sem uma coleta após instrumentação associada a uma solução irrigadora. Em nosso protocolo foi simulado a rotina clínica, onde o agente quelante é utilizado logo após instrumentação.

No Grupo Soro/AG onde foi testado apenas a ação da solução quelante, o AG na C3 não demonstrou valores diferentes de C2, demonstrando que sua ação não foi efetiva para eliminar *Enterococcus faecalis* de forma significativa. Esse resultado difere

dos achados por Gambin *et al.* (2020) onde AG apresentou altas taxas de redução bacteriana. Isso pode ter relação com a escolha da substância, uma vez que optamos por adquirir a solução de AG manipulada em farmácia enquanto os autores realizaram a diluição de AG P.A. Ainda no grupo NaOCl/AG, houve diferença estatística apenas de C1 para C2 e não de C2 para C3, tornando a ação bactericida associada apenas ao uso do NaOCl 2,5%.

Como os trabalhos na literatura com essas soluções ainda são escassos, é preciso que mais estudos primários com protocolos de irrigação final bem definidos sejam realizados afim de elucidar melhor a real ação do AG contra microrganismos no sistema de canais radiculares. A escolha de concentração do AG 17% foi baseada em estudos prévios realizados que demonstrou a ação antimicrobiana (GAMBIN *et al.*, 2020). Além disso, há outros benefícios quando comparados ao EDTA 17%, agente quelante usualmente utilizado na endodontia (BELLO *et al.*, 2019; BELLO *et al.*, 2020; KESKIN; KELEŞ; SARıYıLMAZ, 2021).

## **6 CONCLUSÃO**

Baseado nos resultados encontrados e nas limitações de nosso estudo, após os protocolos de irrigação final utilizados, AE e EDTA quando avaliados de forma isolada ou associado ao NaOCl 2,5% durante a instrumentação, apresentaram os melhores valores na redução de UFC/mL, não possuindo diferença estatisticamente significativa entre eles. O AG apresentou ação antimicrobiana após o PQM, não sendo relevante estatisticamente após o protocolo de irrigação final estabelecido nesse estudo.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Emily Frizzo de. Utilização do Ácido Glicólico nas Alterações Estéticas. **Revista Personalité**, v. 11, n. 56, p. 124-135, 2007.

ALMEIDA, Mariana Porciuncula de; CUNHA NETO, Miguel Angelo da; PINTO, Karem Paula; FIDEL, Sandra Rivera; SILVA, Emmanuel João Nogueira Leal; SASSONE, Luciana Moura. Antibacterial efficacy and discolouration potential of antibiotic pastes with macrogol for regenerative endodontic therapy. **Australian Endodontic Journal**, p. 1-6, 14 set. 2020.

ALVES, F. R. F.; RÔÇAS, I. N.; ALMEIDA, B. M.; NEVES, M. A. S.; ZOFFOLI, J.; SIQUEIRA, J. F. Quantitative molecular and culture analyses of bacterial elimination in oval-shaped root canals by a single-file instrumentation technique. **International Endodontic Journal**, v. 45, n. 9, p. 871-877, 27 mar. 2012.

ANDRADE, Flaviana Bombarda de; ARIAS, Marcela Paola Castro; MALIZA, Amanda Garcia Alves; DUARTE, Marco Antonio Hungaro; GRAEFF, Márcia Sirlene Zardin; AMOROSO-SILVA, Pablo Andrés; MIDENA, Raquel Zanin; MORAES, Ivaldo Gomes de. A new improved protocol for in vitro intratubular dentinal bacterial contamination for antimicrobial endodontic tests: standardization and validation by confocal laser scanning microscopy. **Journal of Applied Oral Science**, v. 23, n. 6, p.591-598, 21 jul. 2015.

ARIAS-MOLIZ, Maria Teresa; MORAGO, Ana; ORDINOLA-ZAPATA, Ronald; FERRER-LUQUE, Carmen María; RUIZ-LINARES, Matilde; BACA, Pilar. Effects of Dentin Debris on the Antimicrobial Properties of Sodium Hypochlorite and Etidronic Acid. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 5, p. 771-775, maio 2016.

ARIAS-MOLIZ, Maria Teresa; ORDINOLA-ZAPATA, Ronald; BACA, Pilar; RUIZ-LINARES, Matilde; FERRER-LUQUE, Carmen María. Antimicrobial Activity of a Sodium Hypochlorite/Etidronic Acid Irrigant Solution. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 12, p. 1999-2002, dez. 2014.

BARRIO, Elena Reboloso de; GANCEDO-CARAVIA, Lucía; GARCÍA-BARBERO, Ernesto; PÉREZ-HIGUERAS, Juan José. Effect of exposure to root canal irrigants on the push-out bond strength of calcium silicate-based cements. **Clinical Oral Investigations**, v. 25, n. 5, p. 3267-3274, 28 out. 2020.

BASMACI, F.; ÖZTAN, M. D.; KIYAN, M. Ex vivo evaluation of various instrumentation techniques and irrigants in reducing *E. Faecalis* within root canals. **International Endodontic Journal**, v. 46, n. 9, p. 823-830, 26 fev. 2013.

BASRANI, Bettina; HAAPASALO, Markus. Update on endodontic irrigating solutions. **Endodontic Topics**, v. 27, n. 1, p.74-102, set. 2012.

BELLO, Yuri dal; FARINA, Ana Paula; SOUZA, Matheus Albino; CECCHIN, Doglas. Glycolic acid: characterization of a new final irrigant and effects on flexural strength and structural integrity of dentin. **Materials Science and Engineering: C**, v. 106, p. 110283, jan. 2020.

BELLO, Yuri dal; PORSCH, Hisadora Fracaro; FARINA, Ana Paula; SOUZA, Matheus Albino; SILVA, Emmanuel João Nogueira Leal; BEDRAN-RUSSO, Ana Karina; CECCHIN, Doglas. Glycolic acid as the final irrigant in endodontics: mechanical and cytotoxic effects. **Materials Science and Engineering: C**, v. 100, p. 323-329, jul. 2019.

BRODY, Harold J. **Chemical Peeling and Resurfacing**. 3. ed. Saint Louis: Elsevier, 2009. 267 p.

CARVALHO, Maria Cristina; ZUOLO, Mario Luis; ARRUDA-VASCONCELOS, Rodrigo; MARINHO, Ariane Cássia Salustiano; LOUZADA, Lidiane Mendes; FRANCISCO, Priscila Amanda; PECORARI, Vanessa Galego Arias; GOMES, Brenda Paula Figueiredo de Almeida. Effectiveness of XP-Endo Finisher in the reduction of bacterial load in oval-shaped root canals. **Brazilian Oral Research**, v. 33, p. 1-8, 2019.

CECCHIN, D; FARINA, Ap; VIDAL, Cmp; BEDRAN-RUSSO, Ak. A Novel Enamel and Dentin Etching Protocol Using  $\alpha$ -hydroxy Glycolic Acid: surface property, etching pattern, and bond strength studies. **Operative Dentistry**, v. 43, n. 1, p. 101-110, 1 jan. 2018.

CECCHIN, Doglas; D'AVIZ, Fernando Soveral; FARINA, Ana Paula; SOUZA, Matheus Albino. Does adding an instrument after root preparation with Reciproc® R25 increase bacterial reduction? **Journal Of Conservative Dentistry**, v. 21, n. 3, p. 269, 2018.

COHEN, Stephen; HARGREAVES, Kenneth M. **Caminhos da polpa**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. xxiii,900 p.

CORREIA, Débora Pereira Diniz. **Análise do Ácido Glicólico com soluções para remoção da smear layer de canais radiculares**. 2018. 110 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2018.

DAGNA, Alberto; ARCIOLA, Carla Renata; VISAI, Livia; SELAN, Laura; COLOMBO, Marco; BIANCHI, Stefano; POGGIO, Claudio. Antibacterial Efficacy of Conventional and Single-use Ni-Ti Endodontic Instruments: an in vitro microbiological evaluation. **The International Journal of Artificial Organs**, v. 35, n. 10, p. 826-831, out. 2012.

DAMETTO, Fábio Roberto; FERRAZ, Caio Cezar Randi; GOMES, Brenda Paula Figueiredo de Almeida; ZAIA, Alexandre Augusto; TEIXEIRA, Fabricio Batista; SOUZA-FILHO, Francisco José de. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 99, n. 6, p.768-772, jun. 2005.

DOMINGUEZ, Melissa Cristina Lantígua; PEDRINHA, Victor Feliz; SILVA, Lorena Cássia Oliveira Athaide da; RIBEIRO, Mara Eliane Soares; LORETTO, Sandro Cordeiro; RODRIGUES, Patrícia de Almeida. Effects of Different Irrigation Solutions on Root Fracture Resistance: an in vitro study. **Iranian Endodontic Journal**, v. 13, n. 3, p. 367-372, 10 jul. 2018.

DUNN, Christopher J.; FITTON, Andrew; SORKIN, Eugene M. Etidronic Acid. **Drugs & Aging**, v. 5, n. 6, p. 446-474, dez. 1994.

ERIK, C. Emre; ORHAN, E. Onur; MADEN, Murat. Qualitative analysis of smear layer treated with different etidronate concentrations: a scanning electron microscopy study. **Microscopy Research and Technique**, v. 82, n. 9, p. 1535-1541, 12 jun. 2019.

ESTRELA, Carlos; ESTRELA, Cyntia R.a.; BARBIN, Eduardo Luis; SPANÓ, Júlio César E.; MARCHESAN, Melissa A.; PÉCORA, Jesus D. Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Brazilian Dental Journal**, v. 13, n. 2, p.113-117, 2002.

FEHR, Frithjof R. von Der; ÖSTBY, Birger Nygaard. Effect of edtac and sulfuric acid on root canal dentine. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 16, n. 2, p. 199-205, fev. 1963.

FURUKAWA, Fukumi; YAMAMOTO, Yuki. Recent advances in chemical peeling in Japan. **The Journal of Dermatology**, v. 33, n. 10, p. 655-661, out. 2006.

GARBEROGLIO, Riccardo; BECCE, Carlo. Smear layer removal by root canal irrigants. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 78, n. 3, p. 359-367, set. 1994.

GIARDINO, Luciano; FABBRO, Massimo del; MORRA, Marco; PEREIRA, Thais; ANDRADE, Flaviana Bombarda de; SAVADORI, Paolo; GENERALI, Luigi. Dual Rinse® HEDP increases the surface tension of NaOCl but may increase its dentin disinfection efficacy. **Odontology**, v. 107, n. 4, p. 521-529, 13 jun. 2019.

GIARDINO, Luciano; SAVADORI, Paolo; GENERALI, Luigi; MOHAMMADI, Zahed; FABBRO, Massimo del; VECCHI, Elena de; BIDOSSO, Alessandro. Antimicrobial effectiveness of etidronate powder (Dual Rinse® HEDP) and two EDTA preparations against *Enterococcus faecalis*: a preliminary laboratory study. **Odontology**, v. 108, n. 3, p. 396-405, 28 fev. 2020.

HAAPASALO, Markus; ENDAL, Unni; ZANDI, Homan; COIL, Jeffrey. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. **Endodontic Topics**, v. 10, n. 1, p.77-102, mar. 2005.

HASHIM, Puziah. The effect of *Centella asiatica*, vitamins, glycolic acid and their mixtures preparations in stimulating collagen and fibronectin synthesis in cultured human skin fibroblast. **Pakistan Journal of Pharmaceutics Science**, v. 27, n. 2, p. 233-27, 2014.

KARATAŞ, Ertuğrul; GÜLTEKİN, Esra; ARSLAN, Hakan; KIRICI, Damla Özsu; ALSANCAK, Meltem; TOPÇU, Meltem Çolak. Evaluation of Instrumentation Systems in Reducing E. Faecalis from Root Canals: tf adaptive and protaper next versus single file systems. **The International Journal of Artificial Organs**, v. 38, n. 3, p. 161-164, mar. 2015.

KESKIN, Cangül; KELEŞ, Ali; SARAYDILMAZ, Öznur. Efficacy of glycolic acid for the removal of calcium hydroxide from simulated internal resorption cavities. **Clinical Oral Investigations**, p. 1-7, 3 jan. 2021.

KHALIFA, Leron; SHLEZINGER, Mor; BEYTH, Shaul; HOURI-HADDAD, Yael; COPPENHAGEN-GLAZER, Shunit; BEYTH, Nurit; HAZAN, Ronen. Phage therapy against Enterococcus faecalis in dental root canals. **Journal of Oral Microbiology**, v. 8, n. 1, p.32157-32167, jan. 2016.

LI, Xiaoping; WU, Ting; BAO, Hongxiang; LIU, Xianyu; XU, Changlin; ZHAO, Yanan; LIU, Dongying; YU, Hongtao. Potential toxic trace element (PTE) contamination in Baoji urban soil (NW China): spatial distribution, mobility behavior, and health risk. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 24, p. 19749-19766, 6 jul. 2017.

LOPES, Hélio Pereira; SIQUEIRA JÚNIOR, José Freitas. **Endodontia: biologia e técnica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. xiii, 951 p.

MACHADO, Felipe Paiva; KHOURY, Rayana Duarte; TOIA, Cassia Cestari; OROZCO, Esteban Isai Flores; OLIVEIRA, Felipe Eduardo de; OLIVEIRA, Luciane Dias de; CARDOSO, Flávia Goulart da Rosa; VALERA, Marcia Carneiro. Primary versus post-treatment apical periodontitis: microbial composition, lipopolysaccharides and lipoteichoic acid levels, signs and symptoms. **Clinical Oral Investigations**, v. 24, n. 9, p. 3169-3179, 13 jan. 2020.

MACHADO, M. E. L.; NABESHIMA, C. K.; LEONARDO, M. F. P.; REIS, F. A. S.; BRITTO, M. L. B.; CAI, S. Influence of reciprocating single-file and rotary instrumentation on bacterial reduction on infected root canals. **International Endodontic Journal**, v. 46, n. 11, p. 1083-1087, 8 abr. 2013.

MELLO, Isabel; KAMMERER, Brigitte Alvarado; YOSHIMOTO, Daiana; MACEDO, Mary Caroline Skelton; ANTONIAZZI, João Humberto. Influence of Final Rinse Technique on Ability of Ethylenediaminetetraacetic Acid of Removing Smear Layer. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 3, p. 512-514, mar. 2010.

MOON, Sang Eun; PARK, Suk Beom; AHN, Hee Tae; YOUN, Jai Il. The Effect of Glycolic Acid on Photoaged Albino Hairless Mouse Skin. **Dermatologic Surgery**, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 179-182, mar. 1999.

MORAGO, Ana; RUIZ-LINARES, Matilde; FERRER-LUQUE, Carmen María; BACA, Pilar; ARCHILLA, Alberto Rodríguez; ARIAS-MOLIZ, María Teresa. Dentine tubule disinfection by different irrigation protocols. **Microscopy Research and Technique**, v. 82, n. 5, p. 558-563, 5 jan. 2019.

NAIR, P.n.ramachandran; SJÖGREN, Ulf; FIGDOR, David; SUNDQVIST, Göran. Persistent periapical radiolucencies of root-filled human teeth, failed endodontic treatments, and periapical scars. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 87, n. 5, p.617-627, maio 1999.

NG, Y.-L.; MANN, V.; GULABIVALA, K. Outcome of secondary root canal treatment: a systematic review of the literature. **International Endodontic Journal**, v. 41, n. 12, p. 1026-1046, dez. 2008.

NG, Y.-L.; MANN, V.; RAHBARAN, S.; LEWSEY, J.; GULABIVALA, K. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature ∴ part 1. effects of study characteristics on probability of success. **International Endodontic Journal**, v. 40, n. 12, p. 921-939, dez. 2007.

NG, Y.-L.; MANN, V.; RAHBARAN, S.; LEWSEY, J.; GULABIVALA, K. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature ∴ part 2. influence of clinical factors. **International Endodontic Journal**, p. 6-31, 11 out. 2007.

ORDINOLA-ZAPATA, R.; MARTINS, J. N. R.; NIEMCZYK, S.; BRAMANTE, C. M. Apical root canal anatomy in the mesiobuccal root of maxillary first molars: influence of root apical shape and prevalence of apical foramina ∴ a micro : ct study. **International Endodontic Journal**, p. 1218-1227, 28 mar. 2019.

PAGONIS, Tom C.; CHEN, Judy; FONTANA, Carla Raquel; DEVALAPALLY, Harikrishna; RUGGIERO, Karriann; SONG, Xiaoqing; FOSCHI, Federico; DUNHAM, Joshua; SKOBE, Ziedonis; YAMAZAKI, Hajime. Nanoparticle-based Endodontic Antimicrobial Photodynamic Therapy. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 2, p. 322-328, fev. 2010.

PEREIRA, T. C.; DIJKSTRA, R. J. B.; PETRIDIS, X.; SHARMA, P.K.; MEER, W. J.; SLUIS, L. W. M.; ANDRADE, F. B. Chemical and mechanical influence of root canal irrigation on biofilm removal from lateral morphological features of simulated root canals, dentine discs and dentinal tubules. **International Endodontic Journal**, v. 54, n. 1, p. 112-129, 19 nov. 2020.

RAJARATNAM, Ratna; HALPERN, James; SALIM, Asad; EMMETT, Charis. Interventions for melasma. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, p. 1-84, 7 jul. 2010.

ROSEN, Eyal; GOLDBERGER, Tomer; TASCHIERI, Silvio; FABBRO, Massimo del; CORBELLÀ, Stefano; TESIS, Igor. The Prognosis of Altered Sensation after Extrusion of Root Canal Filling Materials: A Systematic Review of the Literature. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 6, p.873-879, jun. 2016.

SAITO, Koichi; WEBB, Terry D.; IMAMURA, Glen M.; GOODELL, Gary G. Effect of Shortened Irrigation Times with 17% Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid on Smear

Layer Removal after Rotary Canal Instrumentation. **Journal of Endodontics**, v. 34, n. 8, p. 1011-1014, ago. 2008.

SASSONE, L.; FIDEL, R.; FIGUEIREDO, L.; FIDEL, S.; FAVERI, M.; FERES, M. Evaluation of the microbiota of primary endodontic infections using checkerboard DNA–DNA hybridization. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 22, n. 6, p.390-397, dez. 2007.

SEDGLEY, C. M.; LENNAN, S. L.; APPELBE, O. K. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. **International Endodontic Journal**, v. 38, n. 10, p.735-742, out. 2005.

SIQUEIRA, Evandro Luiz; NICOLETTI, Maria Aparecida; BOMBANA, Antonio Carlos; SANTOS, Marcelo dos. Influência do pH sobre a estabilidade química da solução de hipoclorito de sódio a 0,5%. **Revista da Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 9, n. 3, p. 207-211, 2002.

SIQUEIRA, José F.; ALVES, Flávio R.F.; VERSIANI, Marco A.; RÔÇAS, Isabela N.; ALMEIDA, Bernardo M.; NEVES, Mônica A.s.; SOUSA-NETO, Manoel D.. Correlative Bacteriologic and Micro–Computed Tomographic Analysis of Mandibular Molar Mesial Canals Prepared by Self-Adjusting File, Reciproc, and Twisted File Systems. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 8, p. 1044-1050, ago. 2013.

SOARES, Ilson José; GOLDBERG, Fernando. **Endodontia: técnicas e fundamentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. 524 p.

SOUZA, Matheus Albino; HOFFMANN, Igor Paim; MENCHIK, Vitor Hugo Sanches; ZANDONÁ, Julia; DIAS, Caroline Tumelero; PALHANO, Huriel Scartazzini; BERTOL, Charise Dallazem; ROSSATO-GRANDO, Luciana Grazziotin. Influence of ultrasonic activation using different final irrigants on antimicrobial activity, smear layer removal and bond strength of filling material. **Australian Endodontic Journal**, v. 45, n. 2, p. 209-215, 19 set. 2018.

SUNGUR, D. Deniz; AKSEL, H.; OZTURK, S.; YdLMAZ, Z.; ULUBAYRAM, K. Effect of dentine conditioning with phytic acid or etidronic acid on growth factor release, dental pulp stem cell migration and viability. **International Endodontic Journal**, v. 52, n. 6, p. 838-846, 18 jan. 2019.

TARTARI, T.; GUIMARÃES, B. M.; AMORAS, L. S.; DUARTE, M. A. H.; SOUZA, P. A. R. Silva e; BRAMANTE, C. M. Etidronate causes minimal changes in the ability of sodium hypochlorite to dissolve organic matter. **International Endodontic Journal**, v. 48, n. 4, p. 399-404, 5 jul. 2014.

TEIXEIRA, C. S.; FELIPPE, M. C. S.; FELIPPE, W. T. The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. **International Endodontic Journal**, v. 38, n. 5, p. 285-290, maio 2005.

TEJADA, S.; BACA, P.; FERRER-LUQUE, C. M.; RUIZ-LINARES, M.; VALDERRAMA, M. J.; ARIAS-MOLIZ, M. T. Influence of dentine debris and organic tissue on the

properties of sodium hypochlorite solutions. **International Endodontic Journal**, v. 52, n. 1, p. 114-122, 2 ago. 2018.

TOLEDO, Daniela Chagas. **Uso de hidroxiácidos para desmineralização de esmalte e dentina como protocolo de condicionamento ácido inovador**. 2018. 72 f. TCC (Graduação) - Curso de Odontologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

TORABINEJAD, Mahmoud; HANDYSIDES, Robert; KHADEMI, Abbas Ali; BAKLAND, Leif K Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, v. 94, n. 6, p. 658-666, dez. 2002.

TORABINEJAD, Mahmoud; WALTON, Richard E. **Endodontia: princípios e prática**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010 xvii, 474 p.

ULUSOY, Özgür İlke; ŞEN, Özgür Genç; ZEYREK, Salev; KAYA, Melih; PALTUN, Yelda Nayır. Effect of final irrigation protocols on the fracture resistance of roots with varying dentine thickness. **European Journal of Oral Sciences**, v. 129, n. 2, p. 1-6, 5 mar. 2021.

ULUSOY, Özgür İlke; ZEYREK, Salev; ÇELİK, Bülent. Evaluation of smear layer removal and marginal adaptation of root canal sealer after final irrigation using ethylenediaminetetraacetic, peracetic, and etidronic acids with different concentrations. **Microscopy Research and Technique**, v. 80, n. 7, p. 687-692, 12 fev. 2017.

UZUNOGLU, Emel; AKTEMUR, Sevinc; UYANIK, M. Ozgur; DURMAZ, Veli; NAGAS, Emre. Effect of Ethylenediaminetetraacetic Acid on Root Fracture with Respect to Concentration at Different Time Exposures. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 8, p. 1110-1113, ago. 2012.

VIDAL, Cristina de Mattos Pimenta; LAROY, Caroline; TOLEDO, Daniela Chagas; ALMEIDA, Lais da Mata; QIAN, Fang; HILGERT, Leandro Augusto; BEDRAN-RUSSO, Ana K. Hydroxy acids for adhesion to enamel and dentin: long-term bonding performance and effect on dentin biostability. **Journal of Dentistry**, v. 107, p. 103613, abr. 2021.

VILLALTA-BRIONES, N.; BACA, P.; BRAVO, M.; SOLANA, C.; AGUADO-PÉREZ, B.; RUIZ-LINARES, M.; ARIAS-MOLIZ, M. T. A laboratory study of root canal and isthmus disinfection in extracted teeth using various activation methods with a mixture of sodium hypochlorite and etidronic acid. **International Endodontic Journal**, v. 54, n. 2, p. 268-278, 19 out. 2020.

ZUOLO, M. L.; ZAIA, A. A.; BELLADONNA, F. G.; SILVA, E. J. N. L.; SOUZA, E. M.; VERSIANI, M. A.; LOPES, R. T.; DE-DEUS, G. Micro-CT assessment of the shaping ability of four root canal instrumentation systems in oval-shaped canals. **International Endodontic Journal**, v. 51, n. 5, p. 564-571, 31 jul. 2017.

## 7 APÊNDICE A – TERMO DE DOAÇÃO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

### TERMO DE DOAÇÃO

Eu, \_\_\_\_\_, portador(a) da Carteira de Identidade nº \_\_\_\_\_, por meio deste instrumento, declaro que estou doando o(s) dente(s) \_\_\_\_\_, o(s) qual(is) foi(ram) extraído(s) por indicação periodontal e serão exclusivamente usados para a pesquisa “**Eficácia dos protocolos finais de irrigação na descontaminação dos sistemas de canais radiculares inoculados com *Enterococcus faecalis***”. Declaro, também, que recebi todas as orientações sobre os riscos e objetivos da pesquisa, e que todos os meus dados serão mantidos em sigilo, conforme Resolução CNS 466/2012, que estabelece normas para pesquisa envolvendo seres humanos, assim como, poderei remover o consentimento da pesquisa sem haver penalidade alguma e posso obter informações sobre o andamento da pesquisa através dos seguintes meios:

**Endereço:**

Universidade Federal de Santa Catarina - Campus Florianópolis  
Centro de Ciências da Saúde - Departamento de Odontologia  
Rua Delfino Conti, S/N. Bairro Trindade. Florianópolis-SC. CEP: 88040-370

**Contatos:**

Jardel Dorigon dos Santos  
Fone: 3721-3434. E-mail: jardel.dorigon@gmail.com

Thais Mageste Duque  
Fone: 3721-3434. E-mail: thais.mageste@ufsc.br

Florianópolis, \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_ de 2020.

---

**Assinatura do doador ou responsável legal**

---

**Jardel Dorigon dos Santos – Pesquisador**  
Discente do curso de Pós-graduação em Odontologia

---

**Thais Mageste Duque – Pesquisadora**  
Docente do curso de Pós-graduação em Odontologia

## APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA  
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado, por mim Jardel Dorigon dos Santos (aluno de pós graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC), a participar de uma pesquisa intitulada **“Eficácia dos protocolos finais de irrigação na descontaminação dos sistemas de canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis*”** que tem como objetivo principal avaliar e comparar diferentes protocolos de irrigação final na descontaminação em procedimentos endodônticos. Como objetivos secundários, a pesquisa visa padronizar um protocolo mais eficaz nesse processo do tratamento.

A realização dessa pesquisa é justificada, porque pode contribuir para a descoberta e normatização de um protocolo mais eficiente para a descontaminação de canais radiculares. O diagnóstico da necessidade de extração será realizado por meio de exame clínico, sondagem periodontal e radiografia periapical. A partir desses achados, será observada a impossibilidade de manutenção deste dente na boca. Desta forma, aproveitaremos a necessidade da extração para utilizarmos o dente para a pesquisa, mediante sua autorização.

Sua participação é voluntária e caso não queira participar, isso não lhe trará nenhum problema. Também é garantida a liberdade da retirada deste consentimento a qualquer momento. Caso alguma despesa extraordinária associada à pesquisa venha a ocorrer, você será ressarcido nos termos da lei. Além disso, será garantido o sigilo, o respeito e a privacidade dos participantes, assim como a garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa, de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Poderá haver desconforto e sensibilidade no local devido à cirurgia que é uma consequência possível no pós-operatório cirúrgico. Para evitar esse possível risco, a equipe responsável pela extração realizará um tratamento tranquilo, seguro e prescreverá medicação analgésica ou anti-inflamatória após o procedimento. Assim, não há riscos diretos relacionados ao estudo, apenas aqueles inerentes aos procedimentos de extração. Além disso, será garantido o sigilo, o respeito e a privacidade dos participantes, de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

Os dados serão arquivados por um período de cinco anos após o término da pesquisa e, posteriormente, serão incinerados conforme recomendações éticas. Os pesquisadores se responsabilizam por eventuais riscos, desconfortos decorrentes da participação da pesquisa, além dos benefícios e indenizações que possam vir ocorrer por consequência, ainda que sejam empregadas providências e cautelas para evitar e/ou reduzir efeitos e condições adversas que possam causar dano.

Não haverá benefício direto para o participante. No entanto, ao final da pesquisa, será possível contribuir para os meios clínicos de desinfecção do sistema de canais radiculares favorecendo o reparo dos tecidos dentários. Este projeto está pautado na Resolução 466/ 2012, do Conselho Nacional de Saúde e os pesquisadores comprometem-se em cumprir todos os seus itens.

Em qualquer momento você poderá entrar em contato com os pesquisadores por telefone ou e-mail, no qual estarão disponíveis para fornecer todas as informações e sanar dúvidas a respeito deste estudo, tendo o direito de retirar o seu consentimento de participação.

O presente documento, que estará sendo assinado, caso concorde em participar do estudo, é confidencial. Este termo foi redigido em duas vias, que deverão ser rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo participante e pelos pesquisadores responsáveis. Uma via

será destinada ao participante do estudo e a outra via aos pesquisadores responsáveis. Você receberá uma cópia desse consentimento, onde consta o endereço e o telefone dos pesquisadores principais.

Dúvidas sobre a pesquisa, envolvendo princípios éticos, poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFSC (CEPSH, localizado no Prédio Reitoria II, 4º andar, sala 401, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, Trindade, Florianópolis/SC. **Fone:** (48) 3721-6094, **e-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br. Horário de funcionamento: 2ª a 6ª feira – 10:00 às 12:00h e 16:00 às 18:00h. O CEPSH é um órgão colegiado interdisciplinar, deliberativo, consultivo e educativo, vinculado à Universidade Federal de Santa Catarina, mas independente na tomada de decisões, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

Se não há qualquer dúvida em relação a esta pesquisa e se concorda em participar, solicitamos que assine este Termo de Consentimento. Agrademos desde já a sua atenção e sua colaboração, colocamo-nos a sua disposição para quaisquer esclarecimentos.

**Dados dos pesquisadores:**

**Endereço:**

Universidade Federal de Santa Catarina - Campus Florianópolis  
Centro de Ciências da Saúde - Departamento de Odontologia  
Rua Delfino Conti, S/N. Bairro Trindade. Florianópolis-SC. CEP: 88040-370

**Contatos:**

Jardel Dorigon dos Santos  
*Fone:* 3721-3434. *E-mail:* jardel.dorigon@gmail.com

Thais Mageste Duque  
*Fone:* 3721-3434. *E-mail:* thais.mageste@ufsc.br

Eu, \_\_\_\_\_, portador (a) do RG \_\_\_\_\_, li este documento (ou tive este documento lido para mim por uma pessoa de confiança) e declaro que compreendi os objetivos e os riscos ou desconfortos de minha participação na pesquisa, e que concordo por livre e espontânea vontade em participar da pesquisa.

Florianópolis, \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_ de 2020.

---

**Assinatura do Participante da pesquisa ou responsável legal**

---

**Jardel Dorigon dos Santos – Pesquisador**  
Discente do curso de Pós-graduação em Odontologia

---

**Thais Mageste Duque – Pesquisadora**  
Docente do curso de Pós-graduação em Odontologia

## ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação da eficácia de protocolos finais de irrigação na descontaminação dos sistemas de canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis*

**Pesquisador:** Thais Mageste Duque

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 29889020.7.0000.0121

**Instituição Proponente:** CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.063.344

#### Apresentação do Projeto:

Trata o presente de dissertação de mestrado de Jardel Dorizon dos Santos, do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, orientado por Thais Mageste Duque.

Trata-se de um estudo experimental *in vitro*, com utilização de 131 dentes permanentes humanos de indivíduos maiores de 18 anos extraídos por motivos alheios à pesquisa, e que serão cedidos através de um termo de cessão.

Após a extração, os dentes serão contaminados com *Enterococcus faecalis* (confirmação por microscopia eletrônica de varredura), e posteriormente instrumentados e submetidos a diferentes protocolos de irrigação (7 grupos, sendo um controle e seis experimentais).

Seguir-se-á análise microbiológica em 3 fases diferentes da terapia endodôntica: (1) no início, (2) após a instrumentação e (3) após o protocolo de irrigação. Será avaliada a contagem do número de bactérias através do plaqueamento e das unidades formadoras de colônias. Além disso, será avaliada a presença de bactérias vivas ou mortas no interior dos túbulos dentários, através da técnica do confocal. A quantificação de bactérias viáveis será realizada por meio de software BioImageL.

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-400  
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS  
 Telefone: (48)3721-8004 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 4.003.344

A hipótese dos pesquisadores é que todos os protocolos de irrigação levarão à descontaminação adequada dos túbulos dentários.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Avaliar e comparar protocolos finais de irrigação na desinfecção do sistema de canais radiculares inoculados com *E. faecalis*.

**Objetivo Secundário:**

- Avaliar a viabilidade de bactérias após o uso de protocolos finais de irrigação;
- Avaliar a penetrabilidade das substâncias desinfetantes dentro dos túbulos dentários;
- Avaliar a a efetividade do uso de terapia fotodinâmica (TFD) como complemento no tratamento endodôntico;
- Avaliar a eficácia do uso de ozonioterapia na redução microbiana do sistema de canais radiculares;
- Comparar a redução de bactérias com uso de clorexidina gel ou líquida com uso de irrigação ultrassônica passiva (PUI).

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os pesquisadores entendem haver riscos do procedimento cirúrgico (que será realizado por motivos alheios à pesquisa), mas se colocam à disposição para tomar providências caso ocorram desconforto e sensibilidade no local da cirurgia. No TCLE, no entanto, essa informação é dúbia e consta que não há riscos diretos relacionados aos objetivos da pesquisa. O risco de quebra de sigilo também foi suprimido na versão atual.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa apresenta pertinência e está embasada na literatura. A metodologia é clara e a pesquisa tem potencial para contribuir com o conhecimento na área.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

- A folha de rosto vem assinada pelo/a pesquisadora responsável e pela autoridade institucional competente (Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia).
- Consta declaração da instituição onde será realizada a pesquisa, firmada pela Chefe do Departamento de Odontologia, autorizando a pesquisa, declarando a existência de infraestrutura e comprometendo-se a cumprir os termos da res. 456/12.
- O cronograma informa que a coleta dos dentes acontecerá a partir de 31/05/2020.

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-400  
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS  
 Telefone: (48)3721-8094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC**



Continuação do Parecer: 4.003.344

- O orçamento informa despesas de R\$ 5.318,56 com financiamento próprio.
- Consta termo de cessão dos dentes incorporado ao TCLE, que é esclarecedor a respeito de objetivos, procedimentos, riscos e direitos dos participantes, e cumpre as exigências da res. 466/12.

**Recomendações:**

Permanecer atento(a) às normas das Resoluções que regem a ética em pesquisa no Brasil, procurando manter o foco no conforto do(s) participante(s) em todo o processo da pesquisa.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Tendo sido resolvidas todas as pendências, o parecer é favorável à aprovação.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1520310.pdf	19/05/2020 17:29:05		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	19/05/2020 17:28:32	Thais Mageste Duque	Aceito
Outros	CartaResposta.docx	19/05/2020 17:28:21	Thais Mageste Duque	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	11/03/2020 22:53:48	Thais Mageste Duque	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao.pdf	11/03/2020 22:53:32	Thais Mageste Duque	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	10/03/2020 00:05:18	Thais Mageste Duque	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-400  
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS  
 Telefone: (48)3721-8094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 4.003.344

FLORIANÓPOLIS, 02 de Junho de 2020

---

Assinado por:  
**Maria Luiza Bazzo**  
(Coordenador(a))

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R. Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400  
UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS  
Telefone: (48)3721-6094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br