

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

Giovanna Michellim Kirasuke

Eficácia do Ácido Glicólico na descontaminação de canais radiculares contaminados com Enterococcus faecalis em diferentes protocolos de irrigação final

Giovanna Mich	ellim Kirasuke
Eficácia do Ácido Glicólico na descontamir	nação de canais radiculares contaminados
com Enterococcus faecalis em dife	rentes protocolos de irrigação final
	Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia. Orientadora: Profa. Dra. Thais Mageste Duque Coorientador: Prof. Me. Jardel Dorigon dos Santos
Florian 202	

Kirasuke , Giovanna Michellim

Eficácia do Ácido Glicólico na descontaminação de canais radiculares contaminados com Enterococcus faecalis em diferentes protocolos de irrigação final / Giovanna Michellim Kirasuke ;orientadora, Thais Mageste Duque , coorientador, Jardel Dorigon dos Santos , 2023.
49 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) — Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Odontologia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Odontologia. 2. Ácido Glicólico . 3. EDTA . 4. Enterococcus faecalis . 5. Irrigação Endodôntica . I. Duque , Thais Mageste . II. dos Santos , Jardel Dorigon . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Odontologia. IV. Título.

## Giovanna Michellim Kirasuke

**Título**: Eficácia do Ácido Glicólico na descontaminação de canais radiculares contaminados com Enterococcus faecalis em diferentes protocolos de irrigação final

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Cirurgião-Dentista e aprovado em sua forma final pelo Curso de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 07 de Novembro de 2023.

Insira neste espaço a assinatura

Coordenação do Curso

Banca examinadora

Insira neste espaço a assinatura

Profa. Dra. Thais Mageste Duque
Orientadora

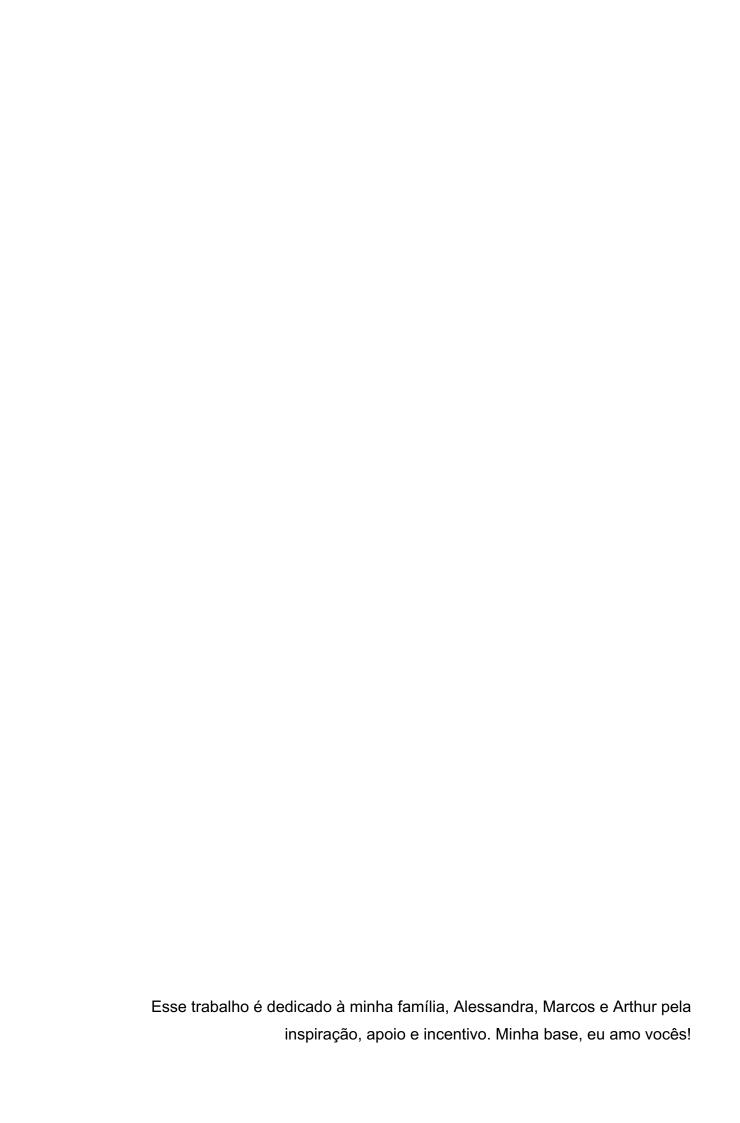
Insira neste espaço a assinatura

Profa. Dra. Juliana Silva Ribeiro de Andrade
UFSC

Insira neste espaço a assinatura

Profa. Me. Heloisa Cardoso Martins
UFSC

Florianópolis, 2023.



## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, minha mãe Alessandra Michellim Kirasuke, meu pai Marcos Tomoyochi Kirasuke, e meu irmão Arthur Michellim Kirasuke, por proporcionarem a realização da minha graduação e de um sonho de infância, por serem os melhores incentivadores, companheiros, conselheiros e inspirações, muito obrigada! Durante todos esses anos vividos longe de casa, ouviram minhas reclamações, sentiram as minhas dores e revoltas, vibraram e comemoram minhas conquistas, incentivaram e me animaram em todos os momentos que pensei em desistir. Mãe e meu exemplo de mulher, a senhora, mesmo de longe, foi meu pilar e minha força todos os dias. Pai, o senhor foi e sempre será minha maior inspiração e referência na Odontologia, se eu me tornar 1/3 do profissional que o senhor é, para mim já basta. Tu, você foi quem mais me ouviu reclamar e com seu jeito preocupado, mas sem demonstrar, me ajudou em cada etapa da minha graduação. Vocês são a minha base, meu porto seguro e a minha vida!

Meu avô **José**, meu anjo no céu. O sonho do senhor era me ver formar para comemorar comigo até o dia amanhecer. Que eu possa cuidar de cada paciente com toda atenção e carinho que o senhor cuidou de mim desde pequena. E que em um futuro, eu te reencontre e volte a cuidar do senhor como sempre fiz.

Aos professores que estiveram presentes em toda minha graduação e que, de alguma forma, marcaram a minha trajetória e me inspiraram com todo conhecimento, meu eterno agradecimento. Em especial a minha orientadora, **Thais Mageste**, que desde a pré-clínica me fez apaixonar pela Endodontia, aceitou orientar esse trabalho, esteve sempre aberta a ouvir e me ajudar e sempre muito dedicada naquilo que faz; além de professora é uma grande mulher e agora vem sendo uma mãezona. Meu co-orientador e mestre **Jardel Dorigon**, sem você esse trabalho jamais aconteceria, obrigada por ter me ajudado em todos os momentos possíveis e inimagináveis, por aguentar meus surtos e por ser essa pessoa incrível que tive o prazer de conhecer.

À minha dupla, **Ana Carolina Pontes**, que me acolheu, junto com toda sua família e foi meu lar em Florianópolis durante todos esses anos. Obrigada pela parceria de todos os dias, pelos surtos, pela diversão, pela cumplicidade e pelos ensinamentos! Além dela, muitas pessoas cruzaram meu caminho e fizeram com que minha trajetória fosse mais leve, alegre, prazerosa e inesquecível, muito obrigada!

Vou levar um pouco de cada um de vocês comigo para sempre, os responsáveis por isso foram vocês: Camila Freitas, Clara Aquino, Débora Santos, Lucas Hoffmann, Verônica Apolinário.

As minhas amigas roommies, **Thawane Gonçalves, Marina Castilho e Eduarda Cardoso** que fizeram tudo se tornar mais lar. Obrigada pelos conselhos, pela parceria, pelos surtos e pela companhia. Que nossa amizade siga forte por longos e longos anos.

Aos meus pacientes, que confiaram em mim e contribuíram tanto para minha formação profissional como evolução pessoal. Aos funcionários e técnicos da UFSC, que sempre ajudaram, ouviram e buscaram alternativas para melhorar o funcionamento do curso. Meu eterno agradecimento a vocês, **Rô, Fátima, Batista, Luiz, Day**. As preceptoras do Centro de Saúde de Santo Antônio, **Nubia Giuliani** e **Sarah Flausino**, vocês me ensinaram o que é o atendimento humanizado e o quão maravilhosa é a Odontologia do dia a dia.

Último, mas não menos importante, à **UFSC**, por proporcionar um ensino público com atendimentos gratuitos e de qualidade para toda população. Serei eternamente grata por tudo que vivi durante esses longos anos. As vezes ela era mais minha casa do que minha própria casa, uma das melhores experiências da minha vida e que com toda certeza do mundo, vou sentir muita saudade!

## **RESUMO**

O objetivo desse estudo foi avaliar a eficácia antimicrobiana do EDTA 17% e do Ácido Glicólico 17% em diferentes protocolos de irrigação na Endodontia, associados ou não ao uso de PUI. Como objetivos secundários, avaliar a redução na contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs) após o preparo químico-mecânico (PQM); avaliar a eficácia como irrigantes finais do EDTA e Ácido Glicólico (AG) individualmente; analisar se a utilização da Irrigação Ultrassônica Passiva (PUI) proporciona maior descontaminação dos canais radiculares; e verificar a redução da carga bacteriana em diferentes momentos de coleta. Cinquenta pré-molares inferiores humanos foram padronizados quanto ao comprimento. Os dentes foram instrumentados com Limas X Wire NiTi 25.08 e 40.06. e depois contaminados com Enterococcus faecalis. Após a contaminação, os dentes foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos (n= 10), de acordo com o protocolo final de irrigação: Grupo EDTA 17%; Grupo EDTA 17%+PUI; Grupo Ácido Glicólico (AG) 17%; Grupo AG 17%+PUI; e Grupo Controle. Coletas microbiológicas foram realizadas em três momentos diferentes do tratamento endodôntico: Inicial (C1); após o PQM (C2); após uso dos protocolos de irrigação final (C3). As coletas foram diluídas, plaqueadas em BHI ágar, incubadas em estufa a 37°C por 48 horas para contagem das unidades formadores de colônia (UFCs) e tabuladas para análise estatística. Para as comparações utilizou-se a Análise de Variância de medidas repetidas (ANOVA twoway). Todas as análises foram conduzidas utilizando o software SPSS 21.0, com um nível de significância de 5%. Os resultados indicaram que a instrumentação com limas reciprocantes reduziu efetivamente a contagem de UFCs. Tanto o AG como o EDTA mostraram ser eficazes na diminuição da carga bacteriana, principalmente quando associados à PUI. Este estudo sugere que o AG pode ser uma alternativa eficaz ao EDTA na descontaminação de canais radiculares contaminados com E. faecalis. Além disso, a utilização da PUI pode melhorar a eficácia da irrigação final na redução da carga bacteriana. No entanto, são necessários mais estudos para confirmar esses resultados e explorar melhor a ação antimicrobiana do Ácido Glicólico em diferentes cenários clínicos.

**Palavras-chave**: Ácido Glicólico; EDTA; Enterococcus faecalis; Irrigação endodôntica.

#### **ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial efficacy of 17% EDTA and 17% Glycolic Acid in different irrigation protocols in Endodontics, whither associated with Passive Ultrasonic Irrigation (PUI) or not. Secondary objectives included assessing the reduction in Colony Forming Units (CFUs) count after chemical-mechanical preparation (CMP), evaluating the efficacy of EDTA and Glycolic Acid (GA) individually, analyzing wheter the use of Passive Ultrasonic Irrigation (PUI) provides greater decontamination of the root canals, and quantifying the reduction of bacterial load at different collection time points. Fifty human lower premolars were standardized in terms of length and root anatomy. The teeth were initially instrumented with X Wire NiTi 25.08 and 40.06 files and then contaminated with Enterococcus faecalis. After contamination, the teeth were randomly allocated into five groups (n=10) according to the final irrigation protocol: Group I EDTA 17%; Group II EDTA 17%+PUI; Group III Glycolic Acid (17%); Group IV GA 17%+PUI and Group V Control. Microbiological collections were performed at three different time points during endodontic treatment: Initial (C1); after CMP (C2); after the use of final irrigation protocols (C3). The collections were diluted, plated on BHI and incubated in a 37°C incubator for 48 hours for counting Colony Forming Units (CFUs) and tabulated for statistical analysis. Twoway repeated measures Analysis of Variance (ANOVA) was used for comparisons. All analyses were conducted using SPSS 21.0 software, with a significance level of 5%. The results indicated that instrumentations with reciprocating files effectively reduced the CFUs count. Glycolic Acid was effective in reducing bacterial load, especially when combined with PUI. EDTA also exhibited antimicrobial action, with better performance when combined with PUI. This study suggests that Glycolic Acid may be an effective alternative to EDTA for decontaminating root canal contaminated with E. faecalis. Furthermore, the use of PUI may enhance the efficacy of final irrigation in reducing bacterial load. However, more studies are needed to confirm these results and further explore the antimicrobial action of Glycolic Acid in different clinical scenarios.

**Keywords**: Glycolic Acid; EDTA; Enterococcus faecalis; Endodontic irrigation.

# **LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> – Dente utilizado para o estudo (a). Disco diamantado de dupla face $n^{\rm o}$ 7016
(b). Secção da coroa (c). Medição com paquímetro para padronização (d). Patência
manual com lima #15 (e). Condicionamento ácido com ácido fosfórico 37% (f)
24
Figura 2 - Adesivo Single Bond 2 (a). Aplicação do adesivo na região apical (b).
Inserção de resina composta (c). Preparo do canal com lima reciprocante X Wire NiTi
25.08 (d). Uso do EDTA 17% (e). Raiz após o selamento externo (f)
Figura 3 – Culturas puras de <i>E. faecalis</i> ATCC 29212 (a). Placa de ágar BHI (b). BHI
em caldo estéril (c). inóculo preparado (d). Tubos para ajuste da contaminação
bacteriana (e). Concentração ajustada em espectrofotômetro (f)
Figura 4 - Remoção do BHI e permanência do dente em inóculo (a). Ciclos de
centrifugação (b e c)
<b>Figura 5 -</b> Coleta inicia $-$ C1 (a). Instrumentação dos canais com a lima $50.05 -$ C2
(b). Irrigação com NaOCl (c). Irrigação com solução quelante (d). Coleta final após
protocolo de irrigação final (e)
Figura 6 - Cone da coleta em BHI estéril e fazendo diluições seriadas (a).
Plaqueamento das alíquotas após as diluições (b e c)

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valores	médios	(Log10)	de	UFC/mL	em	cada	grupo	nas	diferentes
coletas										32
Tabela 2 – V	alores de	e redução	o (%) em	cad	a grupo n	as di	iferent	es cole	tas	33

# LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

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

CUI – Irrigação Ultrassônica Ativa/Convencional

EDTA – Etilenodiamino Tetracético Dissódico

MCVL - Microscopia Confocal de Varredura a Laser

NaOCI - Hipoclorito de Sódio

PUI - Irrigação Ultrassônica Passiva

UFC - Unidade Formadora de Colônia

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO/REVISÃO DE LITERATURA 1	16
2 OBJETIVOS	2
2.1 OBJETIVO GERAL	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS2	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS 2	23
3.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA2	3
3.2 PREPARO DOS ESPÉCIMES E TRATAMENTO DOS CANAI	S
RADICULARES2	3
3.3 PREPARO DO INÓCULO E CONTAMINAÇÃO COM ENTEROCOCCU	S
FAECALIS2!	5
3.4 GRUPOS E PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO FINAL2	8
3.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA2	29
3.6 PROCESSAMENTO MICROBIOLÓGICO DAS AMOSTRAS (DILUIÇÃO	Э,
CONTAGEM DAS UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS – UFC) 3	30
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	1
4 RESULTADOS	2
5 DISCUSSÃO 3	4
6 CONCLUSÃO	7
7 REFERÊNCIAS	8
8 ANEXO A	1

# 1 INTRODUÇÃO/REVISÃO DE LITERATURA

O preparo e a descontaminação do canal radicular, através da instrumentação e irrigação, são considerados fatores importantes no tratamento das alterações pulpares durante a terapia endodôntica.

É de extrema importância que todas as etapas do tratamento endodôntico sejam seguidas de forma criteriosa por um profissional com habilidade na área, capacitado e com senso clínico, buscando reduzir a maior quantidade de microrganismos responsáveis pelo processo infeccioso (LEONARDO; LEONARDO, 2012).

Sabe-se que a anatomia dos canais radiculares é composta por um sistema interligado (Prado et al., 2013). Os instrumentos, se utilizados de forma isolada, não são capazes de eliminar de forma satisfatória os microrganismos presentes nas alterações pulpares, sendo necessário métodos adicionais para favorecer uma maior descontaminação (Prado et al., 2013). Os casos de insucesso endodôntico geralmente estão associados com a falta de manejo nas manobras de controle e eliminação da infecção (Nair et al., 2019). Dentre esses procedimentos destacam-se: o controle asséptico inadequado, acesso cirúrgico aos canais radiculares deficiente, canais não localizados, instrumentação inadequada e a infiltração de restaurações temporárias ou permanentes (Nair et al., 2019).

A principal causa da falha endodôntica é a persistência dos microrganismos que causam a infecção e que resistem às medidas de descontaminação do sistema de canais radiculares (Prado et al., 2019). Dentre esses microrganismos, o *Enterococcus faecalis* está comumente presente. É um coco gram-positivo, anaeróbio facultativo e que consegue sobreviver a temperaturas de 10°C a 60°C, até mesmo em ambientes desprovido de nutrientes e em um meio altamente alcalinizado (Prado *et al.*, 2019). Além disso, são resistentes a alguns tipos de antimicrobianos (Prado *et al.*, 2019) e conseguem se proliferar em diversos meios (SEDGLEY; LENNAN; APPELBE, 2005).

A irrigação faz parte da terapia endodôntica, sendo de fundamental importância para o sucesso do tratamento (Haapasalo *et al.*, 2014). Dentre suas funções, ela pode reduzir o atrito entre os instrumentos e a dentina, melhorando a eficácia do corte das limas, resfriar os instrumentos durante o preparo, principalmente

durante o uso de ultrassom, além de ter potencial antimicrobiano contra bactérias e leveduras (Haapasalo *et al.*, 2014).

O irrigante mais utilizado na endodontia é hipoclorito de sódio (NaOCI), devido a sua capacidade de dissolver matéria orgânica, remover tecido necrótico remanescente e biofilme bacteriano, ter capacidade lubrificante, ser considerado um agente clareador, possuir ação desodorizante e ter baixo custo (Haapasalo *et al.*, 2014). Apresenta como desvantagens a citotoxicidade (em casos de extravasamento), ação corrosiva, odor desagradável e incapacidade de remover componentes inorgânicos do preparo mecânico (Basrani; Haapasalo, 2012; Dioguardi *et al.*, 2018).

O NaOCI é encontrado no mercado em concentrações que variam de 0,5% a 5,25% e seu mecanismo de ação se dá a partir da dissociação em íons Na+ e OCI-que, em pH ácido ou neutro, consegue ter uma atividade antimicrobiana no interior do canal radicular (Dioguardi *et al.*, 2018).

O ácido etilenodiamino tetracético dissódico (EDTA) é um agente quelante utilizado como irrigante final para a remoção da *smear layer* formada após a instrumentação dos canais radiculares. Sua ação se concentra na remoção da parte inorgânica da dentina, com pouca atividade antimicrobiana, e geralmente utilizado em concentrações de 15% a 17% (Haapasalo *et al.*, 2014).

(Mafra et al. 2017) analisaram qual o momento mais utilizado do EDTA para se ter uma remoção eficaz da smear layer nos canais radiculares e verificaram o EDTA foi utilizado como irrigação final seguido do uso de NaOCI e em outros casos, utilizaram soro fisiológico e água destilada após o uso do quelante. Além disso, foram considerados volume e tempo e os autores demonstraram que 1 minuto não é eficiente para a remoção da smear layer, especialmente no terço apical, sugerindo o uso do quelante por um tempo maior. Com 10 minutos de exposição, o EDTA se mostrou capaz de remover essa lama dentinária e desobstruir os túbulos dentinários, porém causou erosões em dentina peri e intertubulares. Por conta disso, recomenda-se a irrigação contínua com 5 mL de EDTA a 17% por três minutos, seguido do uso de NaOCI para a remoção efetiva de componentes orgânicos e inorgânicos, sem alterar a estrutura dentinária (TEIXEIRA; FELIPPE, 2005). A associação entre essas substâncias se mostrou mais eficaz quando comparadas aos seus efeitos separadamente. Ademais, com o objetivo de ativar as soluções irrigadoras e levá-las mais profundamente no canal radicular, a aplicação do ultrassom foi proposta para agitar e intensificar a ação dos quelantes nas superfícies dentinárias, resultando em uma melhoria na capacidade de remoção da *smear layer* por meio da técnica de irrigação ultrassônica passiva (PUI) em comparação com a irrigação convencional com seringa (Mafra *et al.*, 2017).

Os métodos de irrigação que utilizam seringa e agulha têm revelado limitação em alcançar áreas de difícil acesso, como regiões apicais e istmos; por conta disso, diferentes métodos para ativar as soluções irrigadoras tem sido utilizado a fim de potencializar sua eficácia e capacidade de penetração. Estudos mostraram que a PUI proporciona uma remoção mais eficiente da *smear layer* nessas regiões, porém ainda não existe um protocolo estabelecido para a técnica de PUI (Schmidt *et al.*, 2015).

Em um estudo realizado por Schmidt *et al.* (2015), trinta e dois dentes foram divididos em grupos aleatoriamente e receberam 3 ml de EDTA 17% e 3 ml de NaOCl 1% durante 3 minutos cada um e irrigação final com 3 ml de água destilada. Optou-se pelo uso de NaOCl a 1% porque quando combinado com EDTA, este se mostrou eficaz na remoção da *smear layer* com um tempo de ativação ultrassônica de 1 minuto durante a irrigação. Apesar dos resultados obtidos no estudo, nenhum protocolo que estabeleça a quantidade de solução irrigadora, o tempo necessário e qual solução deve ser escolhida para ser ativada ultrassonicamente foi estabelecido.

O ácido glicólico (AG) tem sido estudado como um potencial irrigante final alternativo na endodontia. Ele pertence ao grupo dos alfa hidroxiácidos usado na indústria farmacêutica como um componente orgânico para cosméticos para a pele e como monômero na preparação de polímeros biocompatíveis utilizados na engenharia de tecidos (Bello *et al.*, 2019). É um produto incolor, inodoro e com alta solubilidade em água (Bello *et al.*, 2019). Ademais, estudos *in vivo* e *in vitro* demonstraram que o AG tem a capacidade de induzir síntese de colágeno e proliferação de fibroblastos, além de estar sendo usado para substituir o ácido fosfórico (Bello *et al.*, 2019).

Bello *et al.* (2019) avaliaram o efeito do AG no que diz respeito a interferência na microdureza, rugosidade e remoção da *smear layer* na dentina radicular. Para isso, 60 dentes humanos unirradiculares tiveram suas coroas removidas na junção amelocementária. O comprimento de trabalho foi estabelecido utilizando uma lima K #10 e os canais radiculares preparados até a lima K #45. Entre uma lima e outra, foi realizada irrigação com 5ml de NaOCI 2,5% e irrigação final com 5ml de água destilada. Essas amostras foram divididas aleatoriamente em 6 grupos e imersas por 1 minuto em 50ml de água destilada, EDTA 17%, ácido cítrico 10%, AG 5%, AG 10% e AG 17%. Após isso, foram lavadas com 5ml de água destilada para serem divididas

em grupos e assim avaliar a microdureza da dentina através de um indentador Knoop com ampliação de 40x sob uma carga de 25 gramas para 15 segundos. Três endentações foram feitas em cada amostra; a primeira foi feita a 1.000 µm de distância da entrada do canal radicular e as outras duas foram feitas a uma distância de 200 µm. Os dados obtidos foram confirmados usando o teste Andersom Darling e analisados estatisticamente com a análise de variância unilateral (ANOVA) e teste de Tukey. Concluíram que o AG 17% alcançou a maior redução na microdureza da superfície em relação aos outros grupos, sugerindo capacidade de gerar mudanças minerais na raiz e que a redução da microdureza do AG está associada com concentrações crescentes. Além disso, os resultados mostraram que o AG 5% e 10% foram mais eficazes do que o AG 17% na remoção da *smear layer*. No entanto, nenhuma solução teve a capacidade de promover uma remoção por completo. Por fim, os resultados citotóxicos indicaram que o EDTA 17% tem maior potencial citotóxico quando comparado com o ácido cítrico 10% e ácido glicólico 17%.

Dorigon-Santos (2021) avaliou a ação antimicrobiana de diferentes substâncias conforme os protocolos finais de irrigação em canais radiculares. Prémolares inferiores humanos foram divididos em grupos experimentais, instrumentados com limas R40 e a remoção da *smear layer* realizada com EDTA 17%. Após a instrumentação, os canais foram contaminados com E. *faecalis* e passaram por diferentes protocolos de irrigação final. Os resultados mostraram que o todos os grupos utilizando soro fisiológico como solução irrigadora e Ácido Glicólico, EDTA, Ácido Etidrônico não obtiveram diferença estatística entre si. Concluiu-se que as substâncias testadas não apresentaram ação antimicrobiana satisfatória quando utilizadas para remoção de *smear layer* nos protocolos de irrigação final.

O uso de insertos ultrassônicos na irrigação final tem sido uma alternativa para melhorar o desempenho na remoção da *smear layer* após o protocolo de instrumentação dos canais radiculares. Esse sistema aplicado com insertos específicos pode ser usado como fluxo contínuo (Irrigação Ultrassônica Ativa – CUI) ou intermitente (Irrigação Ultrassônica Passiva – PUI). (Mozo *et al.*, 2014). O canal radicular deve ser preenchido por uma solução irrigadora e o inserto de ultrassom irá ativar o irrigante por meio de movimentos oscilantes ultrassônicos. (Van Der Sluis *et al.*, 2007). Depois que o canal estiver instrumentado e modelado, essa ponta ativada por ultrassom cria efeitos de fluxo acústico e cavitação através de energia e faz com que os irrigantes se penetrem mais facilmente na porção apical, promovendo uma

limpeza e desinfecção mais eficiente. (Mozo *et al.*, 2014) e (KESKIN; KELEŞ; SARIYILMAZ, 2021). Como complemento, é possível uma remoção mais eficiente de tecido orgânico, bactérias/biofilme e detritos dentinários do canal radicular quando comparado a irrigação tradicional (Van Der Sluis *et al.*, 2007).

Segundo SUSILA; EMINU (2019), os métodos de irrigação convencionais, levam a solução irrigadora apenas 1 mm além da ponta da agulha e isso pode fazer com que bactérias continuem no ápice dos canais radiculares, nos canais laterais ou acessórios e por isso, para a remoção completa dos microrganismos, alguns métodos de ativação estão sendo utilizados. A irrigação ativada envolve a aplicação de um método que promove a agitação e melhora o fluxo das soluções irrigadoras dentro dos canais radiculares por meio de mecanismos mecânicos ou outras formas de energia, visando melhorar a remoção de detritos, *smear layer* e minimizar a extrusão periapical. Em contrapartida, a irrigação convencional depende principalmente da pressão positiva de injeção e da viscosidade da solução para penetrar no canal.

Além disso, de acordo com as conclusões dos estudos de SUSILA; EMINU, (2019), a irrigação ativada demonstrou vantagens, como alcançar o comprimento de trabalho com a solução irrigadora sem causar dor pós-operatória nas primeiras 48 horas após o procedimento, além de garantir a limpeza adequada dos canais radiculares. Por outro lado, a irrigação convencional com agulha, resultou em níveis elevados de dor pós-operatória, possivelmente devido à pressão positiva gerar uma maior pressão hidráulica, o que pode levar ao surgimento da dor.

Orlowski et al. (2020), testaram o efeito da irrigação convencional e da PUI da solução de EDTA seguido pela irrigação convencional com duas concentrações de NaOCI na remoção da *smear layer*. Os grupos que utilizaram EDTA com PUI apresentaram maiores irregularidades na parede dentinária em relação aos grupos que não utilizaram essa combinação e isso pode ter acontecido pelo contato direto da ponta do ultrassom com a parede do canal. Além disso, na irrigação convencional (CI), a utilização adicional da irrigação ultrassônica passiva (PUI) melhorou consideravelmente a eficácia do EDTA a 17% na remoção da camada de *smear layer* em todos os terços do canal radicular. Esse estudo demonstrou que, ao agitar o EDTA ultrassonicamente com a PUI, tanto o NaOCI a 1% quanto o NaOCI a 5% conseguiram remover completamente a camada de *smear layer* no terço coronal e terço médio do canal quando essas soluções foram aplicadas após o uso do EDTA para eliminar o componente orgânico. Por outro lado, quando o EDTA foi utilizado sem a PUI, foi

necessário o uso do NaOCI em uma concentração mais alta (5%) para remover completamente a camada de *smear layer* nessas partes do espaço do canal. Concluindo então que, a PUI é fundamental quando o EDTA é utilizado para a desinfecção do canal em combinação com uma concentração mais baixa de NaOCI, com o propósito de remover o componente orgânico da camada de *smear layer*. No entanto, quando uma concentração mais alta de NaOCI é empregada como segundo irrigante após o uso do EDTA, a agitação ultrassônica do EDTA para a completa remoção da camada de *smear layer* não é uma exigência.

Sabendo que o tratamento endodôntico não consegue esterilizar o sistema de canais radiculares, faz-se necessário o emprego de diversas soluções de forma associada para reduzir ao máximo a quantidade de microrganismos viáveis. O objetivo desse estudo foi avaliar a eficácia da irrigação final com EDTA e AG na descontaminação de dentes contaminados com E. *faecalis*, associados ou não ao uso de PUI.

# **20BJETIVOS**

# 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficácia antimicrobiana do EDTA 17% e do Ácido glicólico 17% em diferentes protocolos de irrigação na Endodontia, associados ou não ao uso de PUI.

# 2.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a redução na contagem de UFCs após PQM;
- Analisar se a utilização da PUI propicia uma maior descontaminação dos canais radiculares;
  - Quantificar a redução da carga bacteriana nos diferentes tempos de coleta.

# **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

O projeto desse 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).

Metodologia baseada na dissertação de JD dos Santos (2021).

# 3.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Neste estudo de natureza experimental *ex vivo*, foram escolhidos e analisados 50 pré-molares inferiores permanentes humanos, que foram extraídos de pacientes não associados à pesquisa. Os dentes foram doados pelo Biobanco de Dentes Humanos da Universidade do Oeste de Santa Catarina (BDH/UNOESC), assim como por clínicas particulares. Os doadores consentiram ao preencher o Formulário de Doação e o Formulário de Consentimento Esclarecido e Livre.

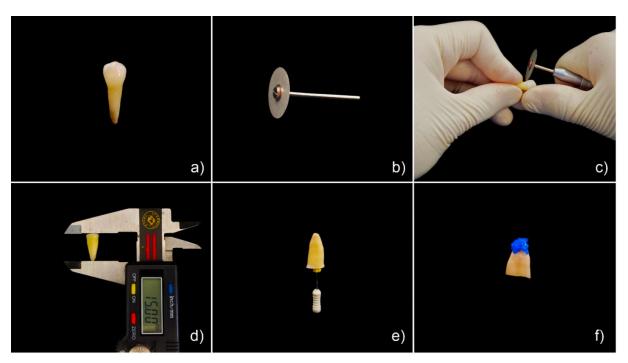
Os dentes selecionados apresentavam canais únicos, retos e com desenvolvimento radicular completo, confirmado através de radiografias periapicais iniciais. Dentes com cáries radiculares, fraturas, calcificações, quaisquer formas de reabsorção e casos em que não foi possível passar pelo forame apical foram excluídos deste estudo. Após a seleção, os dentes foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos (n=10), compreendendo um grupo controle e quatro grupos experimentais.

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado usando o software G\*Power 3.1.9.4 (Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf, Alemanha), utilizando o método de cálculo "a priori" para o teste de Análise de Variância (ANOVA) de medidas repetidas. A potência estatística foi estabelecida em 80%, com um nível alfa de 5% e um tamanho de efeito de 1.0. Com base nisso, o número mínimo estabelecido para cada grupo foi de 10 dentes.

# 3.2 PREPARAÇÃO DOS ESPÉCIMES E TRATAMENTO DOS CANAIS RADICULARES

Os dentes foram imersos em solução de NaOCI 1% (Asfer, São Caetano do Sul, SP, Brasil) por um período de 1 hora para desinfecção inicial. Após serem reidratados em água destilada, as coroas dos dentes foram seccionadas com um

disco diamantado de dupla face n° 7016 (American Burs, Palhoça, Santa Catarina, Brasil) para padronizar o comprimento radicular em 15 mm. (Figura 1-A a 1-D).



**Figura 1.** Dente utilizado para o estudo (a). Disco diamantado de dupla face nº 7016 (b). Secção da coroa (c). Medição com paquímetro para padronização (d). Patência manual com lima #15 (e). Condicionamento ácido com ácido fosfórico 37% (f).

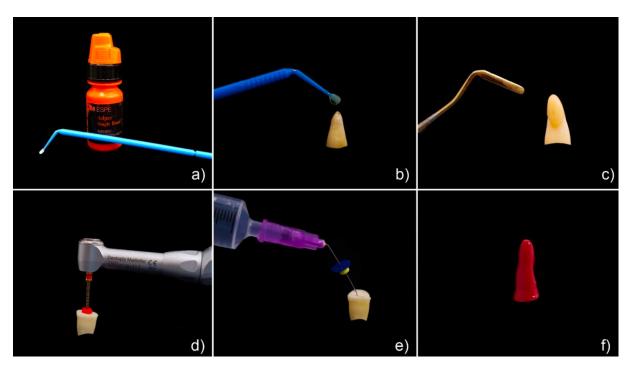
A determinação da patência de cada espécime (Figura 1-E) foi efetuada utilizando limas do Tipo K #10 e #15 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça). A remoção da *smear layer* foi realizada através do uso de EDTA 17% (Fórmula & Ação, São Paulo, SP, Brasil) durante 3 minutos, seguido de irrigação com água destilada.

Para padronizar o diâmetro e a conicidade, os canais radiculares foram instrumentados antes da contaminação. A medição do comprimento do canal (Odontometria) foi executada utilizando limas do tipo K #15 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) até que a lima ficasse visível na abertura do forame apical. O comprimento de trabalho (CT) permaneceu o mesmo determinado na fase de mensuração. A fim de evitar extravasamento de soluções irrigadoras e para simular um sistema de canal radicular fechado, a região apical foi selada. Esse processo envolveu a aplicação de condicionador ácido fosfórico a 37% (PHS do Brasil, Joinville, SC, Brasil) por 30 segundos (Figura 1-F), seguido por duas camadas de adesivo (3M ESPE, St. Paul, Estados Unidos da América) (Figura 2-A e 2-B) ativado por

fotopolimerizador durante 30 segundos. Posteriormente, resina composta Charisma Classic (Figura 2-C) (Heraeus Kulzer, Alemanha) foi inserida e fotoativada por mais 40 segundos.

O preparo dos canais radiculares foi executado por um único operador, usando instrumentos X Wire NiTi 25.08 e 40.06 (Universo Odonto, São Paulo, Brasil) (Figura 2-D), alternados com 2 mL de solução de NaOCI 2,5% (Asfer, São Caetano do Sul, SP, Brasil), até que o instrumento atingisse o comprimento de trabalho (CT). Após o preparo, os canais receberam 3 mL de EDTA 17% (Figura 2-E) por um período de 3 minutos para a remoção *da smear layer*, seguido de irrigação 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 por uma secagem de 48 horas (Figura 2-F). Posteriormente, os espécimes foram autoclavados a 121°C por 15 minutos.

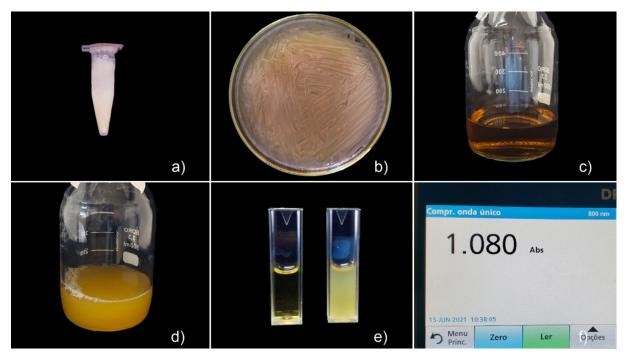


**Figura 2.** Adesivo Single Bond 2 (a). Aplicação do adesivo na região apical (b). Inserção de resina composta (c). Preparo do canal com lima reciprocante X Wire NiTi 25.08 (d). Uso do EDTA 17% (e). Raiz após o selamento externo (f).

3.3 PREPARAÇÃO DO INÓCULO E CONTAMINAÇÃO COM ENTEROCOCCUS FAECALIS

Para a introdução da contaminação nas raízes, foram empregadas culturas puras de *E. faecalis* ATCC 29212 (Figura 3-A) cultivadas em meio de caldo Brain Heart Infusion (BHI). A pureza das culturas foi confirmada por meio da observação da morfologia das colônias, coloração de Gram e teste de catalase. O *E. faecalis* foi subcultivado em ágar BHI (Figura 3-B) (Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil) e incubado a 37°C em uma atmosfera contendo 5% de CO2, durante um período de 24 horas. Após isso, uma parte foi transferida para um novo tubo contendo BHI caldo estéril (BHI, Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil) e incubada por mais 24 horas (Figura 3-C e 3-E), sob as mesmas condições.

Após o período de incubação, as colônias isoladas foram transferidas para tubos contendo 5,0 mL de BHI, seguindo o padrão de concentração 1,0 na escala de McFarland (3,0 × 108 bactérias/mL), confirmado por uma absorbância de 800 nm no espectrofotômetro (Hach, Loveland, Colorado, Estados Unidos da América) (Figura 3-E e 3-F). O procedimento de contaminação dos espécimes ocorreu ao longo de 5 dias, seguindo um protocolo baseado em estudo prévio (ANDRADE et al., 2015).



**Figura 3.** Culturas puras de *E. faecalis* ATCC 29212 (a). Placa de ágar BHI (b). BHI em caldo estéril (c). inóculo preparado (d). Tubos para ajuste da contaminação bacteriana (e). Concentração ajustada em espectrofotômetro (f).

No primeiro dia, os espécimes que tinham sido previamente padronizados foram acondicionados em microtubos *Eppendorf* contendo 800 μL de BHI caldo estéril. Um banho ultrassônico foi realizado durante 15 minutos para garantir uma melhor penetração do meio de cultura nos túbulos dentinários antes do processo de contaminação. O BHI caldo foi removido após o banho ultrassônico e 800 μL do inóculo (Figura 4-A) foi acrescentado aos microtubos contendo as amostras, que então foram submetidos à centrifugação a 1.400, 2.000, 3.600 e 5.600g (Hsiangtai Machinery Ind. CO, Taisan Hsiang, Taipei Hsien, Taiwan), em dois ciclos de 5 minutos cada (Figura 4-B e 4-C). Entre cada ciclo de centrifugação, um novo inóculo bacteriano era introduzido nos microtubos, e o inóculo usado durante a centrifugação anterior era descartado. Após a conclusão de todos os ciclos de centrifugação, os espécimes foram incubados em aerobiose, a 37°C, por 24 horas.

No segundo dia de contaminação, os microtubos com os espécimes foram agitados em um agitador de vórtex por 10 segundos, e o inóculo foi descartado. Em seguida, 1 mL de BHI caldo estéril foi adicionado, e um ciclo de centrifugação a 3.600g por 5 minutos a 25°C foi realizado, seguido por uma nova incubação em condições aeróbicas a 37°C, por mais 24 horas.



**Figura 4.** Remoção do BHI e permanência do dente em inóculo (a). Ciclos de centrifugação (b e c).

No terceiro dia, um novo inóculo fresco de E. *faecalis*, previamente preparado, foi utilizado, e novamente, ciclos de centrifugação foram executados da mesma forma que no primeiro dia. No quarto dia, os procedimentos realizados foram iguais aos do segundo dia de contaminação. No quinto dia, os espécimes foram retirados dos tubos e preparados para aplicação dos protocolos que foram testados.

# 3.4 GRUPOS E PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO FINAL

Após a contaminação, os dentes foram submetidos a um repreparo dos canais radiculares usando uma lima M Wire NiTi 50.05 (Universo Odonto, São Paulo, Brasil) com movimento reciprocante. Foram realizados três movimentos de vaivém até atingir o comprimento de trabalho (CT), intercalando com a solução de NaOCI 2,5%.

Posteriormente, os 50 dentes foram distribuídos de maneira aleatória em cinco grupos, de acordo com o protocolo de irrigação final estabelecido, sendo 10 dentes em cada grupo:

Grupo EDTA: preparo com 4ml de soro fisiológico seguido de 3ml de EDTA 17% com irrigação convencional durante 3 minutos.

Grupo EDTA+PUI: preparo com 4ml de soro fisiológico seguido com ativação da solução EDTA dentro do canal radicular com inserto Irrisonic durante 20 segundos por três vezes, totalizando 60 segundos – 1 minuto.

Grupo AG: preparo com 4ml de soro fisiológico seguido de 3ml de AG 17% com irrigação convencional durante 3 minutos.

Grupo AG+PUI: preparo com 4ml de soro fisiológico seguido com ativação da solução AG dentro do canal radicular com inserto Irrisonic durante 20 segundos por três vezes, totalizando 60 segundos – 1 minuto.

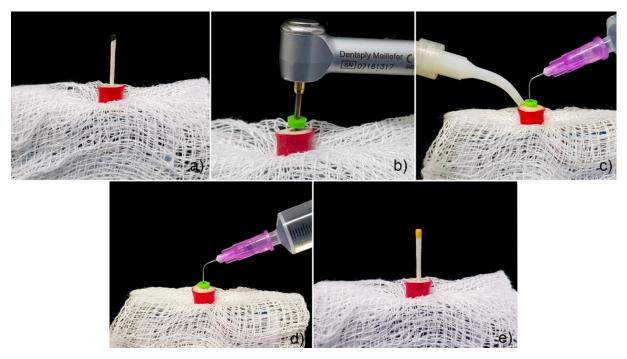
Grupo Grupo Controle (GC): Utilização de 4 mL de soro fisiológico e realização de irrigação final contínua com 3 mL de água destilada por um período de 3 minutos.

Todas as substâncias empregadas nos protocolos de irrigação final, após o processo de instrumentação, permaneceram no interior do canal por 1 minuto, sendo substituídas a cada minuto. O tempo total de exposição a essas substâncias foi de 3 minutos. Para o procedimento de irrigação, foram empregadas agulhas com saída lateral de 30mm x 25mm (MK Life, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil), ajustadas a 2mm do comprimento de trabalho (CT), com movimentos de vaivém e amplitude variando entre 2mm e 3mm.

# 3.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

A análise microbiológica envolveu três momentos de coleta em diferentes etapas do protocolo, sendo a primeira antes da instrumentação (C1), a segunda após a instrumentação dos canais com a lima 50.05 (C2), e a terceira ao final do protocolo de irrigação final testado (C3) (Figura 5).

Para realizar as coletas, uma ponta de papel absorvente estéril R40 (40/0,06) (VDW, Munique, Alemanha) foi inserida no interior do canal radicular, alcançando o comprimento de trabalho (CT). Essa ponta permaneceu em contato com as paredes do canal por um minuto. Posteriormente, os cones de papel foram transferidos para microtubos Eppendorf individuais, cada um contendo 1000 μL de BHI caldo estéril (Figura 6-A).

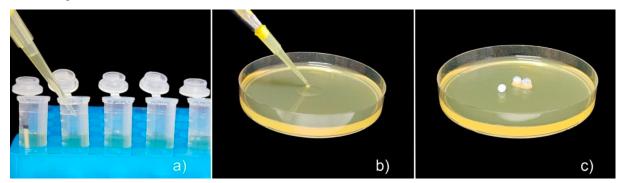


**Figura 5.** Coleta inicia – C1 (a). Instrumentação dos canais com a lima 50.05 – C2 (b). Irrigação com NaOCl (c). Irrigação com solução quelante (d). Coleta final após protocolo de irrigação final (e).

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

As amostras coletadas foram processadas utilizando o 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 utilizando o agitador Vortex Basic (Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil) durante 1 minuto e foram submetidas a diluições em série de 1/10, 1/100, 1/1000 e 1/10000 em BHI estéril (Figura 6-A).

Uma alíquota de 100 µL das diluições 10-2 e 10-4 foram colocadas em duplicata em placas de ágar BHI (Figura 6) e incubadas em uma estufa de CO2 a 37°C por 48 horas. Após o período de incubação, as colônias de microrganismos presentes nas placas foram contadas para determinar o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs). A pureza das culturas foi confirmada por meio da observação da morfologia das colônias, coloração de Gram e teste de catalase.



**Figura 6.** Cone da coleta em BHI estéril e fazendo diluições seriadas (a). Plaqueamento das alíquotas após as diluições (b e c).

# 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Antes de escolher os testes estatísticos apropriados, verificou-se a normalidade dos dados por meio do teste Shapiro-Wilk. Esse teste envolveu a avaliação do quadrado da combinação linear dos valores da amostra de cada grupo em relação à estimativa usual de variância simétrica. Os valores das contagens de UFC/mL foram submetidos a uma transformação logarítmica e os resultados indicaram que os dados seguiam uma distribuição normal (p>0,05), permitindo a adoção de testes paramétricos.

Para as comparações utilizou-se a Análise de Variância de medidas repetidas (ANOVA two-way). Todas as análises foram conduzidas utilizando o software SPSS 21.0, com um nível de significância de 5%.

## **4RESULTADOS**

A tabela 1 apresenta os valores médios de (Log10) de UFC/mL em cada grupo e nas diferentes coletas realizadas.

Tabela 1. Valores médios (Log10) de UFC/mL em cada grupo nas diferentes coletas.

Grupo	C1	C2	C3
EDTA	2,93 (±0,07) Aa	2,18 (±0,09) Ab	1,08 (±0,14) Ac
EDTA+PUI	2,94 (±0,08) Aa	2,21 (±0,19) Ab	0,96 (±0,13) Bc
AG	2,97 (±0,07) Aa	2,19 (±0,04) Ab	0,43 (±0,34) Cc
AG+PUI	2,97 (±0,06) Aa	2,29 (±0,18) Ab	0,42 (±0,26) Cc
Controle	2,98 (±0,09) Aa	2,33 (±0,23) Ab	1,80 (±0,06) Dc

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. Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre as coletas do mesmo grupo.

Os valores iniciais de UFC/mL foram semelhantes em todos os grupos, indicando que o protocolo de contaminação conseguiu padronizar a quantidade de bactérias presentes em cada um dos grupos. Os valores em C1 ficaram entre 2,93 UFC/ml e 2,98 UFC/ml não apresentando diferença estatística entre ambos (p>0,05). A C2 de todos os grupos, mostrou redução efetiva da contagem de UFCs, sendo os menores valores para o grupo AG (2,19 UFC/ml) e os maiores valores para o grupo Controle (2,33 UFC/ml), porém sem diferença na comparação intergrupos de mesma coleta (p>0,05).

Em C3, testando apenas a ação da solução final, o grupo Controle apresentou o resultado com menor desempenho comparado aos demais grupos (p<0,05). O uso de EDTA+PUI obteve resultados superiores comparado ao EDTA usado apenas com irrigação convencional (p=0,012). Comparando os grupos com uso do Ácido Glicólico, AG+PUI não demonstrou diferença estatística significativa quando comparado ao uso de AG apenas de forma convencional (p=0,000095). Quando comparado o uso apenas da irrigação convencional, os melhores resultados foram obtidos pelo grupo AG, seguido de EDTA e Controle. AG em comparação ao EDTA apresentou valores de p=0,07 e controle valores de p=0,000033. EDTA em relação ao grupo controle apresentou valores de p=0,000002. Ainda em C3 comparando o uso da ativação com ultrassom, AG+PUI apresentou melhores valores quando comparado ao EDTA+PUI (p=0,09).

Tabela 2. Valores de redução (%) em cada grupo nas diferentes coletas.

Grupo	C1 - C2	C2 - C3	C1 - C3
EDTA	25,6%	61,43%	63,13%
EDTA+PUI	24,83%	56,57%	67,32%
AG	26,27%	80,36%	85,52%
AG+PUI	22,9%	81,65%	85,85%
Controle	21,82%	22,74%	39,59%

Coletas (C): C1 – inicial; C2 – após instrumentação; C3 – após uso dos protocolos finais de irrigação

A Tabela 2 apresenta a diminuição em porcentagem dos valores de UFC/mL em todos os grupos testados e em várias etapas de coleta. A diminuição dos grupos de C1 para C2 variou de 21,82% (Grupo Controle) a 26,27% (Grupo AG). No entanto, de C2 para C3, a variação foi de 22,74% (Grupo Controle) a 81,65% (Grupo AG+PUI). Quando analisamos a diminuição de C1 para C3, observamos valores que variaram de 39,59% (Grupo Controle) 85,85% (Grupo AG+PUI).

# **5DISCUSSÃO**

O objetivo desse estudo experimental *ex vivo* foi avaliar a eficácia da irrigação final com EDTA e AG na descontaminação de dentes contaminados com E. *faecalis*, associados ou não ao uso de PUI.

O uso do *Enterococcus faecalis* nesse estudo foi estabelecido por ser uma bactéria resistente que consegue sobreviver até mesmo em ambientes desprovido de nutrientes (Prada *et al.*, 2019) e estar associado a lesões persistentes. Além disso é uma bactéria de fácil cultivo, com crescimento exponencial rápido e mais comumente utilizada em trabalhos que testam a efetividade antimicrobiana de substâncias em Endodontia (SEDGLEY; LENNAN; APPELBE, 2005).

O protocolo de contaminação utilizado para essa metodologia foi baseado em Andrade *et al* (2015), que estabelece várias trocas de inóculo em cada dia de contaminação. Isso faz com que haja uma penetração de *E. faecalis* mais profusa nos túbulos dentinários, diferentemente dos modelos usuais, com contaminações de 7, 14 e 21 dias de forma passiva (Gambin Dj, *et al.*, 2020), (Giardino L, *et al.*, 2020), (Villalta-Briones N, *et al.*, 2021). Os valores em homogeneidade obtidos em C1 em todos os grupos demonstram que houve um padrão coeso de contaminação, com quantidades de microrganismos muito semelhante entre si e sem diferença estatística.

Na observação dos dados em C2, comparando com C1, observa-se que a instrumentação com limas reciprocantes consegue realizar a diminuição da quantidade de MO presente no interior dos canais. Esses dados corroboram com os resultados obtidos por (Siddique R, et al., 2019), (Machado Me, et al., 2010), (Martinho Fc, et al., 2015). Mesmo a irrigação realizada com solução inerte, conseguiu remover em até 26,27% da contaminação presente nos canais radiculares. Entretanto, essa baixa diminuição pode não ser suficiente para um prognóstico mais favorável. Sabese que é necessário o uso de soluções com ação antimicrobiana para potencializar a remoção desses microrganismos a fim obter resultados clínicos mais favoráveis ao reparo, principalmente em dentes com lesões periapicais (Venkataraman Kj, et al., 2021), (Gambin Dj, et al., 2020). O fator que pode explicar pouca remoção é de que o instrumento não consegue tocar em todas as paredes do canal radicular durante o preparo químico mecânico. Isso faz com o biofilme aderido as paredes do canal radicular não seja removido de forma eficaz, permanecendo MO viáveis a uma nova colonização (Vaudt J, et al., 2009), (Souza Ma, et al., 2018.

O preparo e a descontaminação dos canais radiculares são etapas de suma importância para o sucesso do tratamento endodôntico, para isso a irrigação é fundamental. O uso de soluções irrigadores pode reduzir o atrito entre os instrumentos e a dentina, dissolver tecido orgânico, melhorar a eficácia do corte das limas e apresentar um potencial antimicrobiano contra bactérias e leveduras (*Haapasalo, et al.*, 2014).

Sabendo disso, utilizamos algumas soluções irrigadoras para demonstrar a eficácia delas em um tratamento endodôntico. Uma delas é o EDTA, que é um agente quelante utilizado como irrigante final para a remoção de *smear layer* formada após a instrumentação, concentrando-se na parte inorgânica com pouco potencial antimicrobiano (Haapasalo, *et al.*, 2014). Apesar disso, os resultados obtidos nesse estudo mostraram que o EDTA tem potencial de ação antimicrobiana e que pode ser aumentado quando associado a PUI. Tais resultados corroboram com os resultados encontrados no estudo de SCHMIDT e colaboradores (2015).

A irrigação convencional com agulha leva a solução irrigadora apenas 1 mm além da ponta da agulha e pode fazer com que as bactérias ainda continuem no ápice radicular (SUSILA; MINU, 2019). Em nosso estudo, tanto o EDTA quanto o AG, apresentaram resultados semelhantes aplicando a irrigação convencional e a irrigação associada a PUI na coleta 3, mostrando que nesse caso, a irrigação convencional já consegue alcançar ótimos resultados, não sendo necessário o uso da PUI.

A ação do EDTA, de forma convencional ou associada a PUI, pode ter relação tanto com sua ação antimicrobiana, quanto com a potencialização da PUI. O uso de seringa convencional para irrigação e aspiração com cânulas endodônticas, cria uma pressão positiva que pode favorecer o debridamento do biofilme aderido as paredes do canal radicular. Quando há a associação da PUI nesse processo, o leve aquecimento gerado nas substâncias associada a fenômeno de cavitação, faz com que as bolhas produzidas cheguem com maior potência as paredes dos canais radiculares, melhorando a remoção do biofilme aderido e, consequentemente, reduzindo a carga microbiana presente no interior dos canais radiculares (Jiang Lm, et. al., 2011; Vivan RR, et al., 2016; Fernandes KGC, et al., 2020; Oliveira A, et al., 2022).

O Ácido Glicólico surge inicialmente para uso na odontologia como um condicionador de dentina e esmalte (Cecchin D, et al., 2018). Após os resultados por ele obtidos, ele começou a ser testado como um possível substituto ao EDTA na

remoção de smear layer. Os nossos resultados demonstraram que ele possui caráter antimicrobiano, conseguindo remover até 81,65% de E. faecalis, quando associada ao PUI. E mesmo quando utilizado em irrigação convencional, a remoção foi de 80,36%. Esses dados vão ao encontro dos trabalhos de (Bello YD, et al., 2019), (Gambin Dj, et al., 2020) que também apresentaram forte ação antimicrobiana do AG quando utilizaram de forma complementar ao preparo químico mecânico. Nosso estudo não avaliou a remoção de *smear layer* e medicação intracanal do AG. Porém, associando os resultados obtidos no presente estudo com os de (Bello Y. D, et al., (Correia, D., 2018), sugere-se que essa substância pode ser utilizada como substância auxiliar no tratamento endodôntico favorecendo tanto a diminuição da carga bacteriana quanto a remoção da lama dentinária criada após o preparo mecânico. Entretanto, os resultados obtidos por Dorigon-Santos (2021) fazem um contraponto aos que foram achados no presente estudo. Em uma metodologia similar, a ação do AG não obteve diferença significativa quando comparado aos demais grupos testados. Essa contradição e poucos estudos sobre o AG como substância química auxiliar sugere ainda que sejam realizadas mais investigações para conseguir determinar a real ação do AG contra biofilmes bacterianos.

# 6CONCLUSÃO

Levando em consideração os dados obtidos nesse estudo, com suas limitações metodológicas, o AG apresentou melhores valores de remoção de E. faecalis do interior dos canais radiculares quando comparado ao EDTA. O EDTA associado a irrigação ultrassônica passiva apresentou melhores resultados, em relação a redução antimicrobiana, quando comparado a irrigação convencional. Não houve diferença na ação do AG quando associada a PUI para descontaminação. Sugere-se novos estudos a fim de comprovar efetivamente a ação antimicrobiana do AG para uso na Endodontia.

# **REFERÊNCIAS**

BASRANI, B.; HAAPASALO, M. Update on endodontic irrigating solutions. **Endodontic Topics**, v. 27, n. 1, p. 74–102, 2012.

BASRANI, B. R. et al. Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 8, p. 966–969, 2007.

BELLO, Y. D. et al. Glycolic acid as the final irrigant in endodontics: Mechanical and cytotoxic effects. **Materials Science and Engineering C**, v. 100, p. 323–329, 2019.

CECCHIN D, FARINA AP, VIDAL C, BEDRAN-RUSSO AK. A Novel Enamel and Dentin Etching Protocol Using α-hydroxy Glycolic Acid: Surface Property, Etching Pattern, and Bond Strength Studies. **Oper Dent.** 2018 Jan/Feb;43(1):101-110.

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.

DIOGUARDI M, GIOIA GD, ILLUZZI G, LANEVE E, COCCOA A, TROIANO G. Endodontic irrigants: Different methods to improve efficacy and related problems. *Eur J Dent*. 2018;12(3):459-466.

FERNANDES KGC, SILVA BBD, BOER NC, MANDARINI DR, MORETI LCT, KATO AS, BUENO CEDS, LIMOEIRO AGDS, PINHEIRO SL, MARTIN AS, FONTANA CE. The Effectiveness of Three Irrigation Systems in the Enterococcus faecalis Reduction after Instrumentation with a Reciprocating Instrument. **Eur J Dent**. 2020 Oct;14(4):539-543.

GAMBIN DJ, LEAL LO, FARINA AP, SOUZA MA, CECCHIN D. Antimicrobial activity of glycolic acid as a final irrigant solution for root canal preparation. *Gen Dent*. 2020;68(1):41-44.

GIARDINO L, SAVADORI P, GENERALI L, et al. Antimicrobial effectiveness of

etidronate powder (Dual Rinse® HEDP) and two EDTA preparations against Enterococcus faecalis: a preliminary laboratory study. *Odontology*. 2020;108(3):396-405.

HAAPASALO, M. et al. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. **Endodontic Topics**, v. 10, n. 1, p. 77–102, mar. 2005.

HAAPASALO, M. et al. Irrigation in endodontics. **British Dental Journal**, v. 216, n. 6, p. 299–303, 2014.

JIANG LM, VERHAAGEN B, VERSLUIS M, LAGEDIJK J, WESSELINK P, VAN DER SLUIS LW. The influence of the ultrasonic intensity on the cleaning efficacy of passive ultrasonic irrigation. *J Endod*. 2011;37(5):688-692.

KESKIN, C.; KELEŞ, A.; SARIYILMAZ, Ö. Efficacy of glycolic acid for the removal of calcium hydroxide from simulated internal Resorption cavities. **Clinical Oral Investigations**, v. 25, n. 7, p. 4407–4413, 1 jul. 2021.

KRISHNAMURTHY, S.; SUDHAKARAN, S. Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 7, p. 1154–1157, 2010.

LANTIGUA DOMÍNGUEZ, M. C. et al. Effects of different irrigation solutions on root fracture resistance: An in vitro study. **Iranian Endodontic Journal**, v. 13, n. 3, p. 367–372, 2018.

LEONRDO, R. T.; LEONARDO, M. R. Aspectos atuais do tratamento da hipertensto arterial. **Arq. bras. cardiol**, v. 51, n. 1, p. 99–105, 2012.

MACHADO ME, SAPIA LA, CAI S, MARTINS GH, NABESHIMA CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. *J Endod*. 2010;36(7):1238-1240.

MAFRA, S. C. et al. A eficácia da solução de EDTA na remoção de smear layer e sua

relação com o tempo de uso: uma revisão integrativa. **Revista da Faculdade de Odontologia - UPF**, v. 22, n. 1, p. 120–129, 2017.

MARTINHO FC, FREITAS LF, NASCIMENTO GG, et al. Endodontic retreatment: clinical comparison of reciprocating systems versus rotary system in disinfecting root canals. *Clin Oral Investig.* 2015;19(6):1411-1417.

MORAGO, A. et al. Influence of Smear Layer on the Antimicrobial Activity of a Sodium Hypochlorite/Etidronic Acid Irrigating Solution in Infected Dentin. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 11, p. 1647–1650, 2016.

MOZO, S. et al. Effectiveness of passive ultrasonic irrigation in improving elimination of smear layer and opening dentinal tubules. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 6, n. 1, fev. 2014.

NAIR, P. N. R. et al. Persistent periapical radiolucencies of root-filled human teeth, failed endodontic treatments, and periapical scars. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 87, n. 5, p. 617–627, 1999.

OLIVEIRA A, ROCHA D, DE MARTIN A, et al. Evaluation of antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis* of activated chelating agents in different final rinse protocols: An *ex vivo* study. *J Clin Exp Dent*. 2022;14(8):e646-e651. Published 2022 Aug 1.

ORLOWSKI, N. B. et al. Smear Layer Removal Using Passive Ultrasonic Irrigation and Different Concentrations of Sodium Hypochlorite. **Journal of Endodontics**, v. 46, n. 11, p. 1738–1744, 1 nov. 2020.

PRADA, I. et al. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v. 24, n. 3, p. e364–e372, 2019. PRADO, M. et al. Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice.

SANTOS, Jardel Dorigon dos. Ação antimicrobiana de agentes quelantes na

desinfecção de canais radiculares contaminados com Enterococcus faecalis após protocolos de irrigação final. 2021. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós Graduação em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2021.

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, 2005.

SCHMIDT, T. F. et al. Effect of Ultrasonic Activation of Irrigants on Smear Layer Removal. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 8, p. 1359–1363, 1 ago. 2015.

SIDDIQUE R, NIVEDHITHA MS. Effectiveness of rotary and reciprocating systems on microbial reduction: A systematic review. **J Conserv Dent.** 2019 Mar-Apr;22(2):114-122.

SOUZA MA, TUMELERO DIAS C, ZANDONA J, PAIM HOFFMANN L, SANCHES MENCHIK VH, PALHANO HS, BERTOL CD, ROSSATO-GRANDO LG, CECCHIN D, DE FIGUEIREDO JAP. Antimicrobial activity of hypochlorite solutions and reciprocating instrumentation associated with photodynamic therapy on root canals infected with Enterococcus faecalis – an in vitro study, Photodiagnosis and Photodynamic Therapy (2018).

SUSILA, A.; MINU, J. Activated irrigation vs. Conventional non-activated irrigation in endodontics – A systematic review. European Endodontic JournalKare Publishing, 2019.

TARTARI, T. et al. Effects of heat in the properties of NaOCI alone and mixed with etidronate and alkaline tetrasodium EDTA. **International Endodontic Journal**, v. 54, n. 4, p. 616–627, 2021.

TEIXEIRA, C. S.; FELIPPE, M. C. S.; FELIPPE, W. T. The effect of application time of EDTA and NaOCI on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. **International** 

**Endodontic Journal**, v. 38, n. 5, p. 285-290, maio 2005.

VAN DER SLUIS, L. W. M. et al. **Passive ultrasonic irrigation of the root canal: A** review of the literature. International Endodontic Journal, jun. 2007.

VAUDT J, BITTER K, NEUMANN K, KIELBASSA AM.V. Ex vivo study on root canal instrumentation of two rotary nickel-titanium systems in comparison to stainless steel hand instruments. *Int Endod J.* 2009;42(1):22-33.

VENKATARAMAN KJ, BOOMINATHAN SK, NAGAPPAN R, ABRAHAM CS, KALIYAPERUMAL A, NACHIMUTHU J, PREMKUMAR MM. Efficacy of Glycolic Acid on Debris and Smear Removal as a Final Rinse Solution in Curved Canals: A Scanning Electron Microscope Study. **J Pharm Bioallied Sci.** 2021 Nov;13(Suppl 2): S1603-S1608.

VILLALTA-BRIONES N, BACA P, BRAVO M, et al. 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. *Int Endod J*. 2021;54(2):268-278.

VIVAN RR, DUQUE JA, ALCADE MP, SÓ MV, BRAMANTE CM, DUARTE MA. Evaluation of Different Passive Ultrasonic Irrigation Protocols on the Removal of Dentinal Debris from Artificial Grooves. *Braz Dent J.* 2016;27(5):568-572.

## **ANEXO A**



## 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 Dorigon dos Santos, do Programa de PósGraduação 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 inicio, (2) após a instrumentação e (3) após o protocolo de irrigação. Será avaliada a contagem do numero 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 BiolmageL.

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: FLORIANOPOLIS





Continuação do Parecer: 4.063.344

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 dentinários;
- 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 Chefia do Departamento de Odontologia, autorizando a pesquisa, declarando a existência de infraestrutura e comprometendo-se a cumprir os termos da res. 466/12.
- 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: FLORIANOPOLIS

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 4.063.344

- 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 Resolucões que regem a etica 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_P ROJETO_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: FLORIANOPOLIS

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 4.063.344

FLORIANOPOLIS, 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: FLORIANOPOLIS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIENCIAS DA SAÚDE CURSO DE ODONTOLOGIA DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ODONTOLOGIA

# ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 7 dias do mês de Novembro de 2023, às horas, em sessão pública
no (a) CCS - B211 desta Universidade, na presença da Banca Examinadora presidida
pelo Professora Dra. Thais Mageste Duque
e pelos examinadores:
1 – Juliana Silva Ribeiro de Andrade
2 – Heloisa Cardoso Martins
a aluna Giovanna Michellim Kirasuke
apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação intitulado:
Eficácia do Ácido Glicólico na descontaminação de canais radiculares contaminados
com Enterococcus faecalis em diferentes protocolos de irrigação final.
como requisito curricular indispensável à aprovação na Disciplina de Defesa do TCC e
a integralização do Curso de Graduação em Odontologia. A Banca Examinadora, após
reunião em sessão reservada, deliberou e decidiu pelado do
referido Trabalho de Conclusão do Curso, divulgando o resultado formalmente ao
aluno e aos demais presentes, e eu, na qualidade de presidente da Banca, lavrei a
presente ata que será assinada por mim, pelos demais componentes da Banca
Examinadora e pelo aluno orientando.
Presidente da Banca Examinadora
Presidente da Banca Examinadora
fleli Matur
VExaminador 1
Exign.
Examinador 2
· ·
Giavanna m. Kiraruki
Aluno