

Luander Medrado Santiago

Avaliação do potencial antimicrobiano da água ozonizada, digluconato de clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2,5%, na terapia endodôntica de incisivos bovinos contaminados com *Enterococcus faecalis*. Um estudo *in vitro*.

Brasília
2019

Luander Medrado Santiago

Avaliação do potencial antimicrobiano da água ozonizada, digluconato de clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2,5%, na terapia endodôntica de incisivos bovinos contaminados com *Enterococcus faecalis*. Um estudo *in vitro*.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a conclusão do curso de Graduação em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Laudimar Alves de Oliveira

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Loise Pedrosa Salles.

Brasília
2019

Dedico este trabalho a minha família e amigos que sempre estiveram comigo em todos os momentos, sendo fáceis ou difíceis. Obrigado por todo apoio e por acreditar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro a Deus pois sem Ele nada é possível.

Agradeço a meu pai por sempre me dizer que sou capaz e que sem luta não há vitória.

Agradeço a minha mãe por acreditar em mim mesmo quando eu não acreditei, e por sempre me ajudar em todos os momentos.

Agradeço a meus irmãos, Lael e Leandro, gratidão por ter vocês em minha vida.

Agradeço a Andressa, minha namorada, por me ajudar sempre, inclusive nos momentos turbulentos e difíceis da jornada.

Agradeço ao meu amigo Alexandre Ney, pelos muitos anos de amizade e como sempre esteve comigo em mais essa jornada que foi a graduação. Muito obrigado meu amigo!

Agradeço a meus amigos e colegas de profissão, Guilherme Coelho, Giulia Lettieri, Vitor Ramagem, Lucas Abrantes e Alessandra Ferreira. Passamos por muita coisa juntos, e é ótimo poder contar com vocês. Nós conseguimos!

Agradeço ao Professor Laudimar Alves de Oliveira por ter me aceitado e orientado. Pela amizade e por todos os ensinamentos, tanto os técnicos-científicos quanto sobre a vida. Um exemplo de humildade e nobre caráter.

Agradeço a Professora Loise Pedrosa Salles, que me recebeu e apoiou durante todo o desenvolver dessa pesquisa. É ótimo ter a amizade de uma mulher forte e benevolente.

Agradeço a Professora Maria do Carmo Machado Guimarães por ter me acolhido no início do curso e ter me ensinado muito com seu caráter indubitável, simplicidade e sabedoria durante toda jornada.

Agradeço a Professora Nailê Damé, inteligente e perspicaz sempre trabalhando arduamente e ensinando o melhor da odontologia. Grato por tua amizade e pelos conselhos.

Agradeço a Professora Daniela Corrêa Grissi, muito capaz e sempre disposta a ajudar. Sem dúvidas uma exímia profissional.

Aos meus grandes Mestres, o máximo respeito!

Agradeço a Priscilla Fernandes do Nascimento e Edivaldo Batista Teles, técnicos do laboratório de microbiologia da odontologia, sem vocês eu ficaria perdido. Gratidão!

Agradeço a Professora Tatiana Karla dos Santos Borges por ceder o uso dos equipamentos do laboratório de Imunologia Celular.

Agradeço a Danilo Corranza pela amizade e por me ajudar na utilização e definição de parâmetros do espectrofotômetro.

Agradeço a Shirley e Mariangela, técnicas do laboratório de imunologia celular da Faculdade de Medicina.

Agradeço a Lucas Fraga por me ajudar com o acesso do laboratório.

Agradeço a Coordenadora do departamento de odontologia, Professora Emília Biato, que permitiu o desenvolvimento desse trabalho.

EPÍGRAFE

“Aquele que habita no esconderijo do Altíssimo, à sombra do Onipotente descansará. Direi do Senhor: Ele é o meu Deus, o meu refúgio, a minha fortaleza, e nele confiarei.” Salmos 91:1,2.

RESUMO

SANTIAGO, Luander Medrado. Avaliação do potencial antimicrobiano da água ozonizada, digluconato de clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2,5%, na terapia endodôntica de incisivos bovinos contaminados com *Enterococcus faecalis*. Um estudo *in vitro*. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Departamento de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Objetivo: Avaliar os efeitos antimicrobianos das soluções irrigadoras intracanal: água ozonizada, digluconato de clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2,5% associadas a ultrassom ou *Easy Clean*, em canais radiculares de incisivos bovinos contaminados com a bactéria *Enterococcus faecalis*. **Material e Métodos:** 108 raízes bovinas foram selecionadas, padronizadas com 16 mm de comprimento, instrumentadas e esterilizadas. Em seguida, todos foram contaminados com cepas de *Enterococcus Faecalis* durante 30 dias. As raízes foram divididas em 6 grupos. Primeiro com 24 raízes recebeu água ozonizada, segundo, 24 raízes, hipoclorito de sódio 2,5%, terceiro, 24 raízes, digluconato de clorexidina 2%, quarto, 12 raízes, água destilada, quinto, 12 raízes, hipoclorito de sódio 5% e o sexto, 12 raízes, não teve intervenção. As amostras foram levadas ao espectrofotômetro 48 e 72 horas após a intervenção e seus resultados foram comparados estatisticamente. **Resultados:** O hipoclorito de sódio 2,5%, 5% e clorexidina 2% não tiveram diferença estatística entre si. A água ozonizada foi semelhante a água destilada sendo ambas inferiores aos demais grupos. **Conclusão:** Hipoclorito de sódio 2,5%, 5% e a clorexidina 2% apresentam efeitos antimicrobianos residuais semelhantes contra *E. Faecalis*. A água ozonizada por sua vez não apresentou efeito residual. O uso dos dispositivos de agitação não evidenciou no

presente trabalho o aumento no potencial antimicrobiano na luz do canal.

Palavras-chave

Hipoclorito de sódio, Clorexidina, Ozônio, *Enterococcus Faecalis*, Espectrofotometria.

ABSTRACT

SANTIAGO, Luander Medrado. Evaluation of the antimicrobial potential of ozonated water, 2% chlorhexidine digluconate and 2,5% sodium hypochlorite in the endodontic treatment of bovine incisors contaminated with *Enterococcus faecalis*. An *in vitro* study. 2019. Undergraduate Course Final Monograph (Undergraduate Course in Dentistry) – Department of Dentistry, School of Health Sciences, University of Brasília.

To evaluate the antimicrobial effects of intracanal irrigation solutions: ozonated water, chlorhexidine digluconate 2% and sodium hypochlorite 2.5% associated with ultrasonic device or *Easy Clean* in root canals of bovine incisors contaminated with the bacterium *Enterococcus faecalis*. **Materials and Methods:** One hundred eight bovine roots were selected, sectioned leaving 16 mm length, instrumented and sterilized. After that, they were all contaminated with *Enterococcus faecalis* for 30 days. The roots were divided into 6 groups. First with 24 roots received ozonated water, second, 24 roots, 2.5% sodium hypochlorite, third, 24 roots, chlorhexidine digluconate 2%, fourth, 12 roots, distilled water, fifth, 12 roots, sodium hypochlorite 5% and the sixth, 12 roots, had no intervention. Samples were taken to the spectrophotometer 48 and 72 hours after the intervention and their results were compared statistically. **Results:** Sodium hypochlorite 2.5%, 5% and chlorhexidine 2% had no statistical difference between them. The ozonated water was similar to distilled water, both being inferior to the other groups. **Conclusion:** Sodium hypochlorite 2.5%, 5% and chlorhexidine 2% present similar residual antimicrobial effects against *E. faecalis*. The ozonated water had no residual effect. The use of agitation devices did not show an increase in the antimicrobial potential in the canal.

Key-words

Sodium Hypochlorite, Chlorhexidine, Ozone, Enterococcus
faecalis, Spectrophotometry

SUMÁRIO

Artigo Científico	17
Folha de Título	19
Resumo.....	20
Abstract.....	21
Introdução	23
Material e Métodos	25
Resultados	33
Discussão	39
Conclusão	44
Referências.....	45
Anexos	50
Normas da Revista	50

ARTIGO CIENTÍFICO

Este trabalho de Conclusão de Curso é baseado no artigo científico: SANTIAGO, Luander Medrado; OLIVEIRA, Laudimar Alves; SALLES, Loise Pedrosa. Avaliação do potencial antimicrobiano da água ozonizada, digluconato de clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2,5%, na terapia endodôntica de incisivos bovinos contaminados com *Enterococcus faecalis*. Um estudo *in vitro*.

Apresentado sob as normas de publicação da Revista Dental Press Endodontics.

FOLHA DE TÍTULO

Avaliação do potencial antimicrobiano da água ozonizada, digluconato de clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2,5%, na terapia endodôntica de incisivos bovinos contaminados com *Enterococcus faecalis*. Um estudo *in vitro*.

Evaluation of the antimicrobial potential of ozonated water, 2% chlorhexidine digluconate and 2,5% sodium hypochlorite in the endodontic treatment of bovine incisors contaminated with *Enterococcus faecalis*. An *in vitro* study.

Luander Medrado Santiago¹

Laudimar Alves de Oliveira²

Loise Pedrosa Salles³

¹ Graduando em Odontologia da Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

² Professor Adjunto do Departamento de Odontologia da Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

³ Professora do Programa de Pós graduação em Odontologia da Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

Correspondência:

Campus Universitário Darcy Ribeiro - UnB - Faculdade de Ciências da Saúde - Departamento de Odontologia - 70910-900 - Asa Norte - Brasília – DF

¹E-mail: luander.ms@gmail.com

²E-mail: laudimar.oliveira@gmail.com / Telefone: (61) 31071802

³E-mail: loise@unb.br

RESUMO

Avaliação do potencial antimicrobiano da água ozonizada, digluconato de clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2,5%, na terapia endodôntica de incisivos bovinos contaminados com *Enterococcus faecalis*. Um estudo *in vitro*.

Resumo

Objetivo: Avaliar os efeitos antimicrobianos das soluções irrigadoras intracanal: água ozonizada, digluconato de clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2,5% associadas a ultrassom ou *Easy Clean*, em canais radiculares de incisivos bovinos contaminados com a bactéria *Enterococcus faecalis*. **Material e Métodos:** 108 raízes bovinas foram selecionadas, padronizadas com 16 mm de comprimento, instrumentadas e esterilizadas. Após isso todos foram contaminados com *Enterococcus Faecalis* durante 30 dias. As raízes foram divididas em 6 grupos. Primeiro com 24 raízes recebeu água ozonizada, segundo, 24 raízes, hipoclorito de sódio 2,5%, terceiro, 24 raízes, digluconato de clorexidina 2%, quarto, 12 raízes, água destilada, quinto, 12 raízes, hipoclorito de sódio 5% e o sexto, 12 raízes, não teve intervenção. As amostras foram levadas ao espectrofotômetro 48 e 72 horas após a intervenção e seus resultados foram comparados estatisticamente. **Resultados:** O hipoclorito de sódio 2,5%, 5% e clorexidina 2% não tiveram diferença estatística entre si. A água ozonizada foi semelhante a água destilada sendo ambas inferiores aos demais grupos. **Conclusão:** Hipoclorito de sódio 2,5%, 5% e a clorexidina 2% apresentam efeitos antimicrobianos residuais semelhantes contra *E. Faecalis*. A água ozonizada por sua vez não apresentou efeito residual. O uso dos dispositivos de agitação não evidenciou no presente trabalho o aumento no potencial antimicrobiano na luz do canal.

Palavras-chave

Hipoclorito de sódio, Clorexidina, Ozônio, *Enterococcus Faecalis*, Espectrofotometria.

ABSTRACT

Evaluation of the antimicrobial potential of ozonated water, 2% chlorhexidine digluconate and 2,5% sodium hypochlorite in the endodontic treatment of bovine incisors contaminated with *Enterococcus faecalis*. An *in vitro* study.

Abstract

To evaluate the antimicrobial effects of intracanal irrigation solutions: ozonated water, chlorhexidine digluconate 2% and sodium hypochlorite 2.5% associated with ultrasonic device or *Easy Clean* in root canals of bovine incisors contaminated with the bacterium *Enterococcus faecalis*. **Materials and Methods:** One hundred eight bovine roots were selected, sectioned leaving 16 mm length, instrumented and sterilized. After that, they were all contaminated with *Enterococcus faecalis* for 30 days. The roots were divided into 6 groups. First with 24 roots received ozonated water, second, 24 roots, 2.5% sodium hypochlorite, third, 24 roots, chlorhexidine digluconate 2%, fourth, 12 roots, distilled water, fifth, 12 roots, sodium hypochlorite 5% and the sixth, 12 roots, had no intervention. Samples were taken to the spectrophotometer 48 and 72 hours after the intervention and their results were compared statistically. **Results:** Sodium hypochlorite 2.5%, 5% and chlorhexidine 2% had no statistical difference between them. The ozonated water was similar to distilled water, both being inferior to the other groups. **Conclusion:** Sodium hypochlorite 2.5%, 5% and chlorhexidine 2% present similar residual antimicrobial effects against *E. faecalis*. The ozonated water had no residual effect. The use of

agitation devices did not show an increase in the antimicrobial potential in the canal.

Keywords

Sodium Hypochlorite, Chlorhexidine, Ozone, Enterococcus faecalis, Spectrophotometry

INTRODUÇÃO

O preparo químico-mecânico tem como objetivo promover a limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares. Esse resultado decorre da ação de desgaste das paredes dentinárias promovida pelos instrumentos endodônticos e da utilização das soluções irrigadoras as quais atuam promovendo principalmente a ação antimicrobiana e da retirada de *debris* dentinários do interior do canal por meio do escoamento turbilhonar que se dá pela irrigação. O sucesso do tratamento do sistema de canais radiculares depende essencialmente da desinfecção dos mesmos.¹

Hipoclorito de sódio (NaOCl) e digluconato de clorexidina são agentes antimicrobianos frequentemente usados como solução auxiliar.^{2,3} O hipoclorito de sódio devido ao seu amplo espectro antimicrobiano e capacidade de dissolver tecidos necróticos remanescentes^{3,4}, a clorexidina por sua ampla atividade antimicrobiana, substantividade e baixa citotoxicidade.⁴

Christian Friedrich Schonbein foi o primeiro a utilizar o termo ozônio em 1840. Em 1932, Edward Fisch foi o primeiro a utilizar o ozônio no combate às infecções odontológicas.^{5,6} O ozônio tem sido estudado e até utilizado como alternativa para a irrigação intracanal. O ozônio atua no reparo de feridas, auxilia no tratamento da cárie radicular e pode ser usado contra a microbiota endodôntica. Além disso, parece que o ozônio não tem efeito adverso significativo na adesão dentinária.^{7, 8, 9}

Quanto aos estudos sobre tratamento e retratamento endodôntico o *Enterococcus faecalis* se caracteriza como uma espécie resistente, capaz de sobreviver em ambientes alcalinos com o pH de até 11,5 sendo fortemente associada às falhas dos tratamentos endodônticos^{10, 11, 12, 13, 14}. A *E faecalis* chega a ser nove vezes mais frequente em reinfecções de canais tratados do que em infecções primárias, isso pode ser explicado devido à sua capacidade de sobrevivência em condições desfavoráveis,

fazendo com que seja um patógeno de importância para essas infecções.^{2, 12, 13.}

Os dispositivos mecânicos teriam basicamente duas funções na irrigação: Primeiro, ajudar na remoção de *debris* dentinários e camada de lama dentinárias e; segundo, levar a solução irrigadora as complexas estruturas anatômicas de difícil acesso aos instrumentos endodônticos e a irrigação, ajudando ainda mais na ação antimicrobiana de forma indireta. Logo surgiram dispositivos para a agitação mecânica da solução irrigadora dentro do canal radicular, a ativação ultrassônica passiva e dispositivos de plástico (acrilonitrila-butadieno-estireno) nomeados de *Easy Clean*, ambos são comumente utilizados na clínica odontológica.^{15.}

A lei de Beer-Lambert diz que a quantidade de luz absorvida é proporcional à concentração da substância absorvente. O espectrofotômetro é o aparelho que afere a absorvância de uma substância por meio da quantidade de energia radiante que a atravessa.¹⁶ O meio de cultura caldo *Brain Heart Infusion* BHI ou qualquer outro, quando apresenta crescimento bacteriano tem uma turbidez que é visível até mesmo a olho nu. Essa turbidez reduz a passagem da energia radiante, logo evidencia-se que quanto maior a quantidade de bactérias, mais concentrado, mais energia radiante será bloqueada. Essa é uma forma de quantificar qual meio apresenta maior quantidade de bactérias após a utilização das soluções irrigadoras e dos dispositivos mecânicos de agitação, sabendo assim qual apresenta maior eficácia.¹⁷

Utilizando-se desse dispositivo e dessas premissas objetivo do estudo é avaliar os efeitos antimicrobianos das soluções irrigadoras intracanal: água ozonizada, digluconato de clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2,5% associadas a dispositivos mecânicos de agitação, em canais radiculares de incisivos bovinos contaminados com a bactéria *Enterococcus faecalis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Considerações éticas sobre a pesquisa em animais.

Este estudo foi realizado no laboratório de microbiologia oral da Faculdade de Ciências da Saúde/UnB. Foram utilizados incisivos de bovinos provenientes de animais abatidos para o fim de práticas relacionadas à agropecuária estando de acordo com o § 3º do artigo 1º da Lei Nº 11.794, de 8 de outubro de 2008 e com a resolução normativa CONCEA nº 30, de 02 de fevereiro de 2016.

A documentação foi obtida por meio de fotografia e recibo, não sendo necessária à apresentação ao comitê de ética de pesquisa em animais.

Seleção dos dentes, preparo das raízes e sistemas de canais e organização do modelo:

Os dentes foram extraídos de mandíbulas bovinas e avaliados visualmente. Os que apresentavam fraturas ou aspectos divergentes dos normais foram excluídos. Foram selecionados 108 dentes que foram lavados com sabão neutro e água corrente. Figura 1.



(FIGURA 1 - Incisivos bovinos)

Foi realizada a secção da coroa com disco diamantado (KG Sorensen), tomando como referência a junção amelo-cementária, e também a secção do término do ápice radicular, de forma com que todas as raízes ficassem com 16 mm de comprimento. Figura 2.



FIGURA 2 – Raízes seccionadas com 16 mm de comprimento.

Os canais foram instrumentados com limas K até #40 (Maillefer – Dentsply), e broca de gates glidden #2 (Maillefer – Dentsply) e irrigados abundantemente com água destilada durante todo trabalho mecânico. As raízes tiveram seu ápice selado com uma fina camada de adesivo à base de resina epóxi (Araldite - Tekbond – São Paulo). Figura 3.

Foram autoclavados. Após esterilização, cinco dentes, selecionados aleatoriamente foram levados a capela de fluxo laminar e cones de papel estéreis #40 (Dentsply – Maillefer) foram esfregados na parede interior dos canais e no exterior das raízes, esse material foi distribuído em placas de Petri com meio de cultura ágar BHI e analisado após uma semana, não sendo observadas colônias nas placas, comprovando a esterilidade das raízes. Figura 4.

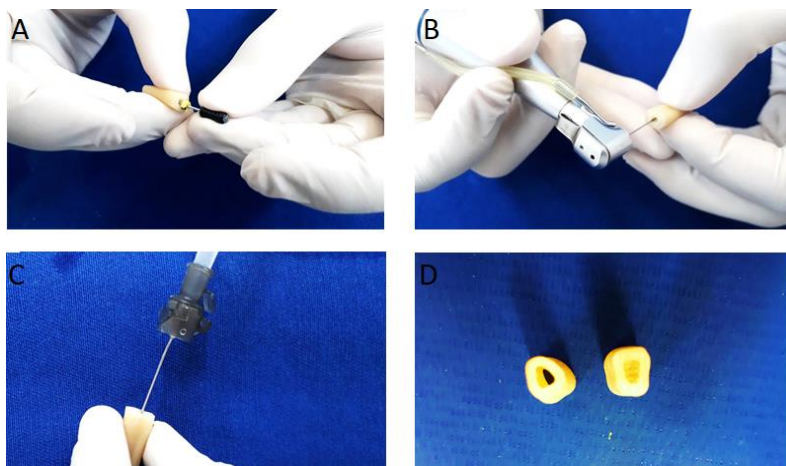


FIGURA 3 – A: Instrumentação com as limas K; B: utilização da broca gates glidden #2; C: irrigação com água destilada durante as trocas de limas; D: Selamento do ápice radicular com adesivo a base de resina epóxi (da esquerda para a direita, antes e após selar).

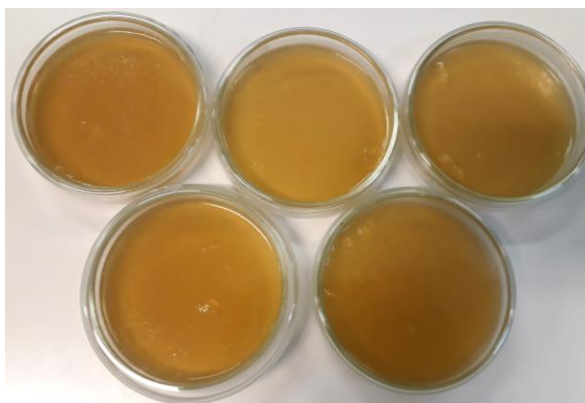


FIGURA 4 – Placas com meio de cultura sem microrganismos uma semana após o teste comprovando a esterilidade das raízes.

As raízes foram então levadas a capela de fluxo laminar e montadas com cera sete, estéril (Lysanda, São Paulo, SP, Brasil) em *clusters* individuais de placas com vinte e quatro poços estéril. Três placas receberam 24 dentes e três placas receberam 12 dentes. Figura 5.

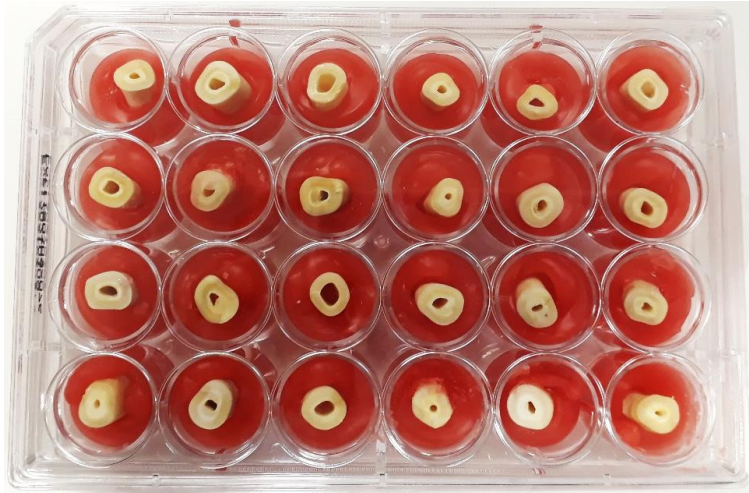


FIGURA 5 - Dentes montados nas placas de 24 poços.

Contaminação dos canais:

E. faecalis ATCC 29212, cresceu em meio de cultura caldo BHI a 37° C durante sete dias. Em seguida os 108 canais radiculares, dentro da capela de fluxo laminar, receberam essa solução de caldo BHI contaminada e foram armazenados em uma estufa a 37° C. Em uma capela de fluxo laminar, caldo BHI estéril foi adicionado de três em três dias, durante trinta dias para que as bactérias se disseminassem no interior dos túbulos dentinários efetivando a contaminação das raízes.

Após sete dias da contaminação, cinco dentes foram selecionados e o conteúdo do seu interior foi submetido à coloração Gram afim de confirmar o isolamento da bactéria e seu padrão de crescimento. Figura 6.

Preparo da solução de água ozonizada:

Foi utilizado o gerador de ozônio *Philozon* da Ozone&Life. Uma coluna de 750 ml de água bidestilada estéril (Fresenius Kabi Brasil Ltda – Barueri - SP) foi misturada com gás ozônio com a concentração de 60 µg/ml durante 10 minutos. O

gás ozônio foi produzido através de oxigênio medicinal nos geradores. Após o preparo da mistura a solução de água ozonizada foi utilizada imediatamente.

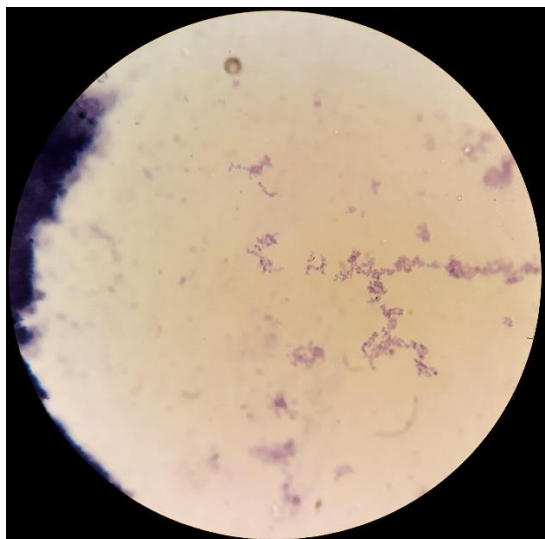


FIGURA 6 – Coloração de Gram. Aumento 40 vezes. Bactéria Gram + com padrão de crescimento e formato da *E. Faecalis*.

Descontaminação dos canais radiculares por meio de fluxo turbilhonar com as soluções auxiliares:

As 108 raízes foram divididas aleatoriamente em 6 grupos. O primeiro contendo 24 raízes foi irrigado com solução de água ozonizada; O segundo, 24 raízes, irrigado com solução de hipoclorito de sódio a 2,5%; O terceiro, 24 raízes, irrigado com digluconato de clorexidina 2%, o quarto, 12 raízes, irrigado com água para injeção bi-destilada estéril (controle negativo); e, o quinto, 12 raízes, irrigado com hipoclorito de sódio a 5% (controle positivo). O sexto grupo contendo 12 raízes não sofreu nenhuma intervenção. Tabela 1

Todos os grupos tiveram a subdivisão quanto a agitação mecânica. A primeira contou apenas com irrigação de 20 ml da

solução. A segunda, irrigação de 20 ml e agitação no interior do canal com pontas de ultrassom. A terceira, irrigação de 20 ml e a agitação com dispositivos de plástico esterilizados descartáveis (*Easy Clean – Easy*). As subdivisões contaram com a mesma quantidade de raízes, ou seja, os grupos 1, 2 e 3, oito raízes em cada subdivisão, e os grupos 4 e 5, quatro raízes em cada uma.

A irrigação foi realizada com seringas rosqueáveis descartáveis de 20 ml estéril e pontas para irrigação 30 G 25 mm estéreis. Cada canal foi irrigado 10 vezes com 2 ml da solução do grupo específico a cada 2 min, totalizando 20 ml de solução para cada canal no tempo total de 20 minutos. Entre a penúltima e última irrigação, utilizou-se a ativação com o ultrassom ou *Easy Clean*, ambos por 20 segundos em cada canal.

Grupo	H ₂ O + O ₃	NaClO 2,5%	CLX	NaClO 5%	H ₂ O	BHI + E.F.
Subdivisão						
Apenas irrigação	8	8	8	4	4	-
Ultrassom	8	8	8	4	4	-
Easy Clean	8	8	8	4	4	-
Total de raízes	24	24	24	12	12	12

TABELA 1 – Divisão realizada em grupos e subgrupos. H₂O + O₃ (Água ozonizada); NaClO 2,5% (Hipoclorito de sódio 2,5%); CLX (digluconato de clorexidina); NaClO 5% (Hipoclorito de sódio 5%); H₂O (Água destilada); BHI + E.F (Caldo Brain Heart Infusion contaminado com *E. Faecalis*, a qual não recebeu tratamento algum de irrigação ou agitação).

Análise do potencial antimicrobiano das soluções auxiliares:

Imediatamente após a irrigação do canal, foi inserido no seu interior um cone de papel estéril #40 (Dentsply – Maillefer)

depois o cone foi levado a um tubo com meio caldo BHI estéril, e armazenado a 37° C. Isso foi realizado para as 96 amostras. Após 48 horas de crescimento bacteriano a primeira amostra foi colhida. A segunda foi colhida após 72 horas. Figura 7.

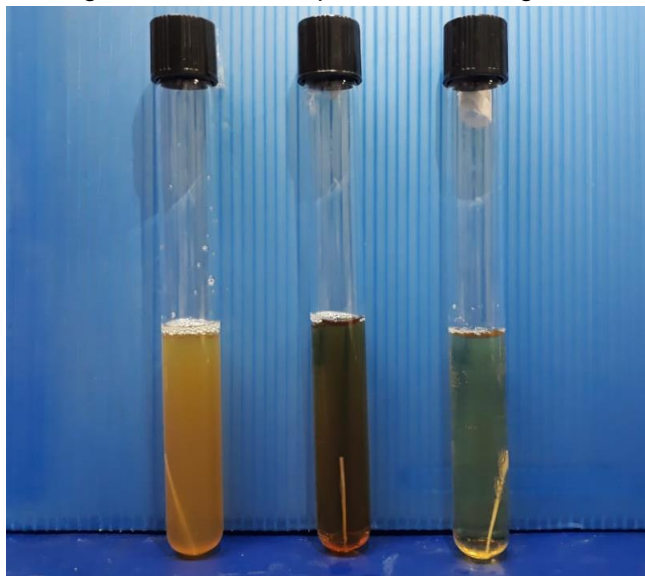


Figura 7 – Três tubos contendo caldo BHI e cones de papel, 72 horas depois da irrigação. Note que apresentam uma variação visível de turbidez, da direita para a esquerda aumenta a turbidez.

O material foi analisado com a utilização do espectrofotômetro (Molecular Devices - *Spectramax plus 384*) que é capaz de analisar o grau de absorbância de uma substância sobre um certo comprimento de onda do espectro eletromagnético. O material do tubo de ensaio do sexto grupo após 48 horas foi levado a uma cubeta de quartzo para a realização da varredura no espectrofotômetro utilizando comprimentos de radiação eletromagnética entre 200 e 900 nm com saltos de 1 nm entre cada leitura. Determinou-se o comprimento de onda ótimo, ou seja, aquele que apresenta maior capacidade de absorbância na solução de caldo BHI

infectada com *E. Faecalis*, a substância com maior turbidez. Figura 8.

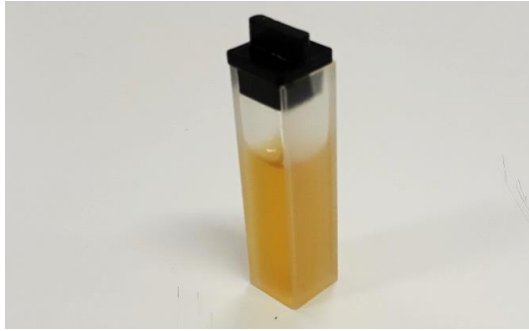


FIGURA 8. Cubeta de quartzo contendo a solução de caldo BHI infectado com a bactéria *E. Faecalis*.

Todas as outras amostras foram distribuídas em uma placa de 96 poços e expostas ao comprimento de onda ótimo de radiação eletromagnética no espectrofotômetro para a leitura das absorbâncias. As amostras foram analisadas 48 e 72 horas após irradiação de descontaminação. Figura 9.



FIGURA 9. Placa de 96 poços. Cada poço contém uma amostra que compõe os 5 diferentes grupos de interesse.

A amostra do sexto grupo com caldo BHI em que se obteve o crescimento bacteriano de *E. Faecalis* (*BHI + EF*) e que não teve interferência alguma, apresentou maior quantidade de

bactérias inicial, o que resultou em maior proliferação de bactérias e maior turbidez, levando a absorção total da radiação eletromagnética com comprimento de onda de 706 nm, determinado por varredura, sem que ocorra passagem de energia radiante através da amostra.

Quanto mais potente a ação antimicrobiana da solução irrigadora que uma amostra receber menor a quantidade de bactérias iniciais logo, menor a quantidade de bactérias viáveis para proliferação, levando a uma população menor de bactérias naquele meio que o torna menos turvo fazendo com que certa parte de radiação eletromagnética consiga ser absorvida pela amostra e uma outra parte dessa radiação a atravesse. Dessa forma, as demais amostras foram comparadas entre si e com a amostra de BHI + EF para verificar a potência antimicrobiana da solução.

Análise estatística:

Os dados obtidos pela espectrofotometria foram tratados, sendo retirados os *outliers* identificados por meio de box-plot e substituídos pelas médias dos grupos, após isso foram submetidos a análise através do programa *STATPLUS:MAC*. O teste *Kolmogorov-Smirnov* foi utilizado mostrando uma distribuição normal, sendo seguido por Anova que mostrou diferença entre os grupos e foi então realizado o post-test de *Scheffe* para análise e comparação inter e intra grupos. A diferença estatística foi considerada quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

A amostra de BHI + EF apresentou absorbância máxima que foi apresentada como 1, as demais amostras foram comparadas utilizando a quantificação das absorbâncias. Quanto menor a absorbância, menor o número de bactérias na amostra logo, mais potente a ação antimicrobiana da solução utilizada.

Em nenhuma das amostras analisadas em 48 ou 72 horas qualquer solução irrigadora associada ou não com a agitação mecânica foi capaz de eliminar todas as bactérias. A comparação entre as soluções de hipoclorito de sódio a 5% (NaClO 5%), hipoclorito de sódio a 2,5% (NaClO 2,5%) e clorexidina a 2% (CHX) mostrou que não houve diferença estatística significativa, apresentando potencial antimicrobiano semelhante, tanto em 48 como em 72 horas. A água ozonizada ($H_2O + O_3$) não diferiu estatisticamente da água destilada (H_2O), porém sendo distintos dos grupos que utilizaram hipoclorito de sódio e clorexidina. Figuras 10, 11 e 12.

A análise das subdivisões e a avaliação do potencial antimicrobiano, diretamente relacionado com o uso dos dispositivos de agitação, ocorreu dentro de cada grupo. Nos grupos que utilizaram digluconato de clorexidina 2%, hipoclorito de sódio 2,5%, hipoclorito de sódio a 5% e água ozonizada não tiveram diferença estatística entre usar ou não o ultrassom ou *Easy Clean*. Figuras 13, 14 e 15.

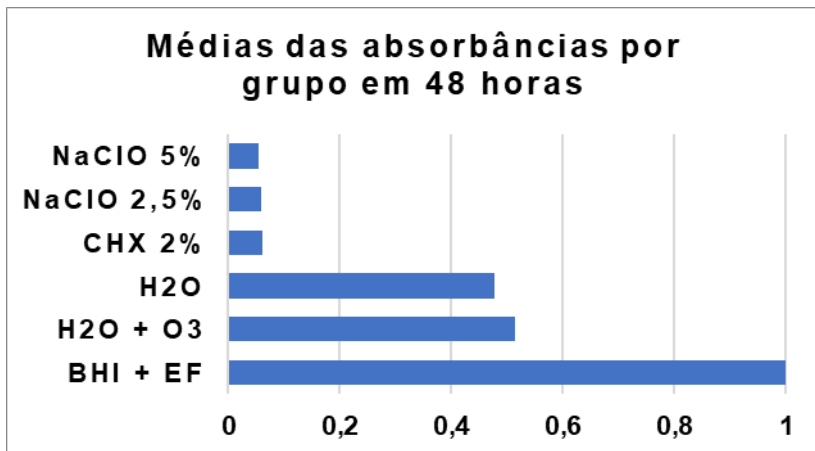


Figura 10- BHI + EF serviu como referência para comparação. A análise após 48 horas mostra que o Hipoclorito de sódio 5%, 2,5% e clorexidina

2% não apresentam diferença significativa entre si. A água destilada e a água ozonizada não apresentam diferença significativa entre si.

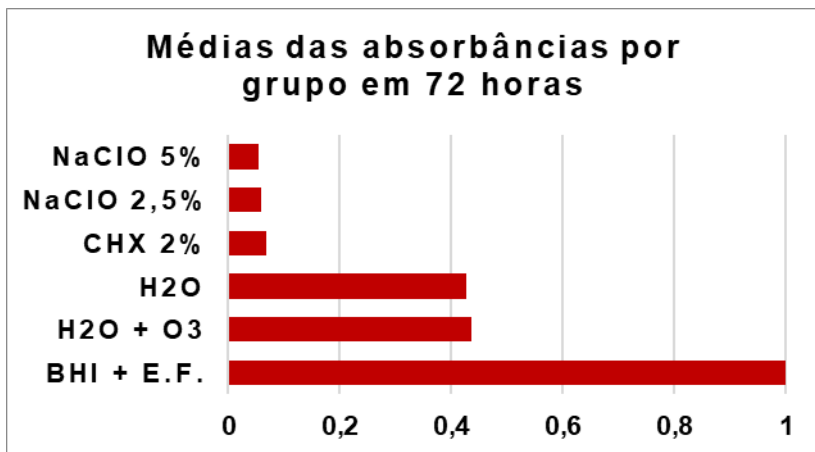


Figura 11- Após 72 horas pode-se observar o mesmo padrão visto na Figura 10.

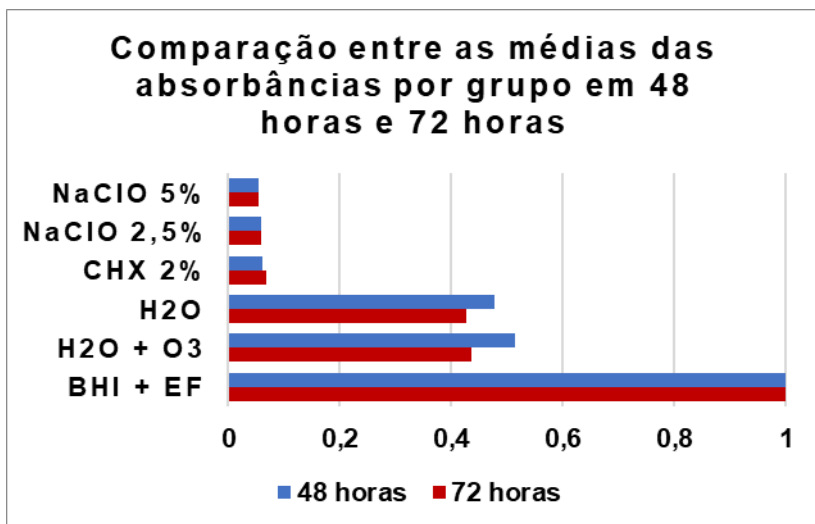


Figura 12- Observa-se a estabilidade dos grupos quando comparados. Essa comparação serve para avaliar o efeito residual das substâncias.

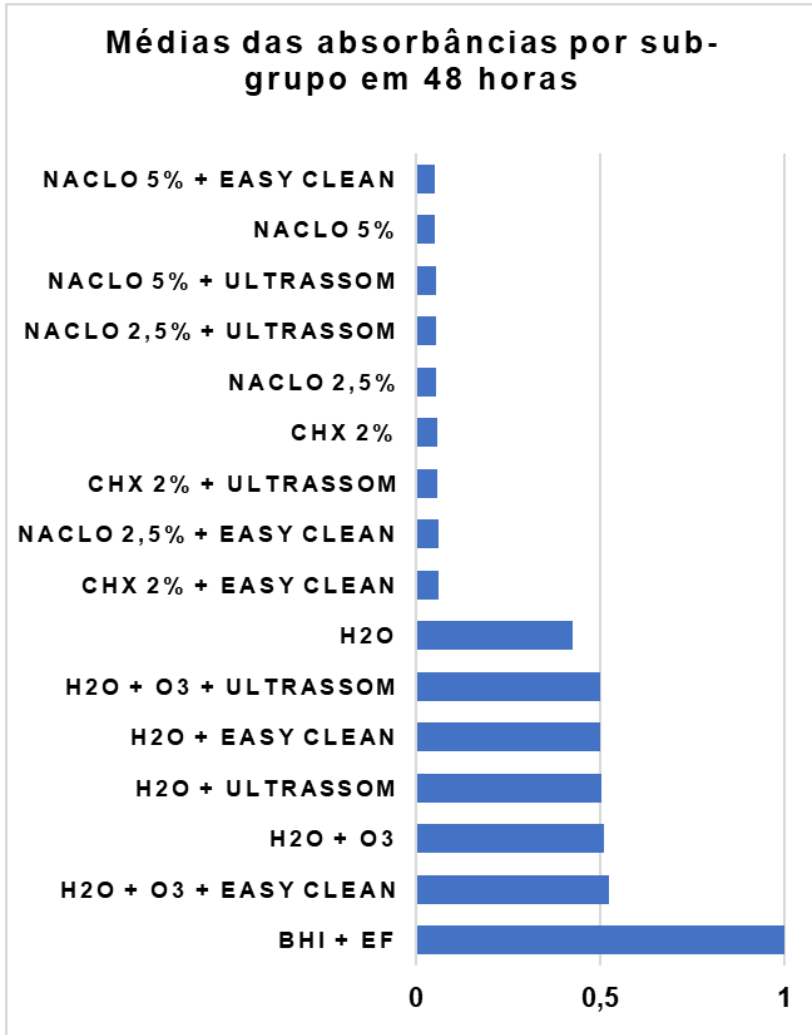


Figura 13- A análise intragrupos não mostrou diferenças significativas quanto a utilização ou não do ultrassom ou dispositivos de plástico.

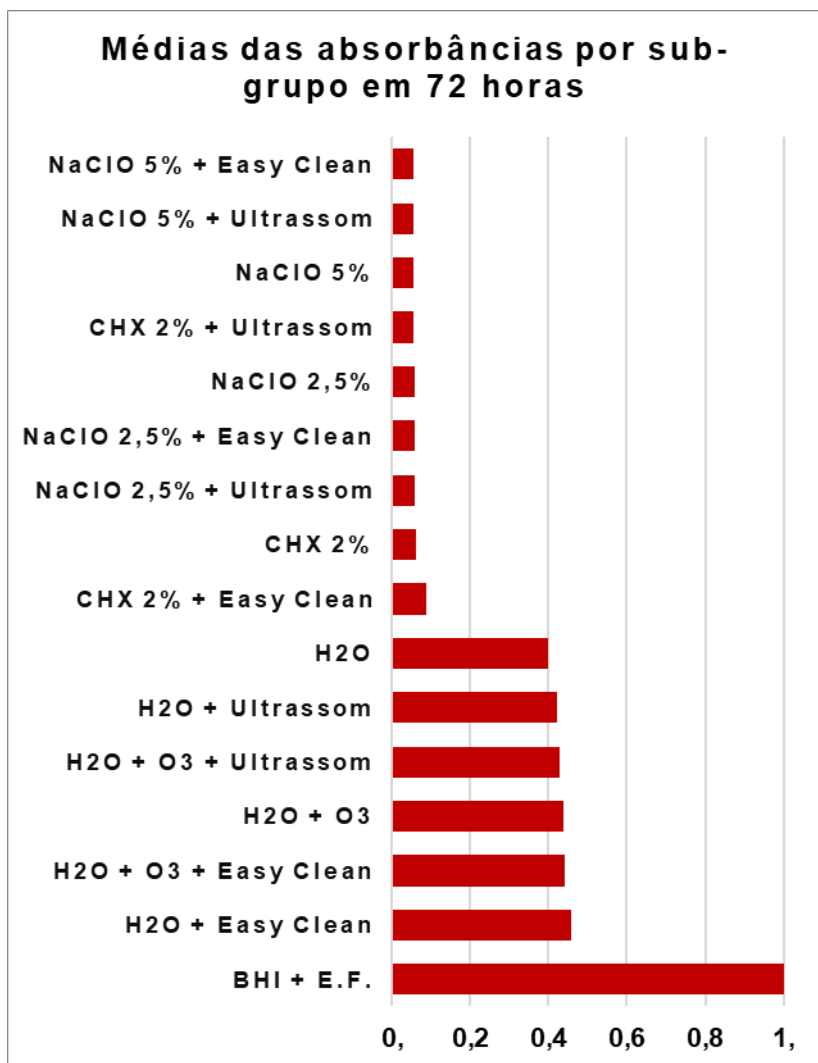


Figura 14- Apesar de pequenas diferenças com a Figura 13, a análise estatística revelou que não houve mudança significativa em 72 horas.

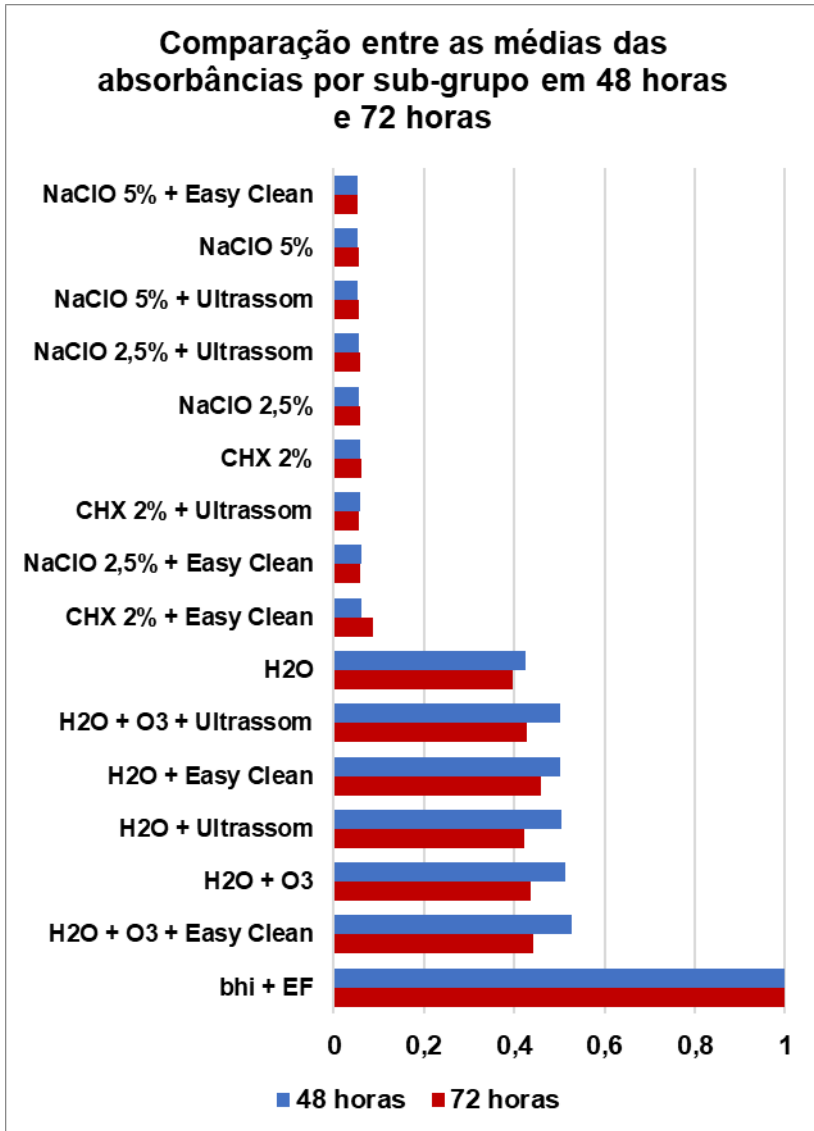


Figura 15- Não houve diferença estatística quanto a utilização ou não o ultrassom ou os dispositivos de plástico em qualquer um dos grupos estudados comparando as análises realizadas 48 e 72 horas após o uso das soluções irrigadoras. Mesmo com pequenas diferenças é possível verificar a presença de uma estabilidade quanto aos resultados.

DISCUSSÃO

No presente trabalho nenhuma substância auxiliar eliminou todas as bactérias, acompanhando a revisão sistemática de Estrela et al que concluiu que nenhuma substância inativa completamente a *E. faecalis*, mostrando a inabilidade de esterilizar canais radiculares.^{2, 18} Isso mostra que existe a necessidade de instrumentação do canal, sem separar procedimentos químicos e mecânicos, uma vez que se completam. Deve-se usar, portanto, ações conjuntas que envolvem a instrumentação, irrigação com substância antimicrobiana e em alguns casos medicação intracanal, utilizando todo o arsenal possível, principalmente em casos de necropulpectomia e retratamentos. Mesmo com tudo isso, bactérias ainda podem ser encontradas no interior do canal, sendo importante o isolamento das mesmas por meio da obturação e de materiais que permitam o sepultamento dessas bactérias.¹

A formação do biofilme é essencial para a resistência e manutenção dos microrganismos no sistema de canais radiculares.¹⁹ A formação de um biofilme implica em associação complexa de vários gêneros bacterianos, uma organização de apenas uma espécie bacteriana forma colônias. Esse estudo quantificou bactérias viáveis em colônia de *E. faecalis* e não a degradação de biofilme, ou seja, uma relação direta entre a eliminação de uma espécie resistente com a potência antimicrobiana da substância estudada. A metodologia desse estudo utilizou apenas a *E. faecalis* e a coleta para crescimento fora dos canais radiculares pós irrigação intracanal, o que permite o estabelecimento dessa relação direta em um sistema simplificado.

O gás ozônio pode ser administrado com água, óleo ou na própria forma de gás.⁶ Devido a sua alta instabilidade, é recomendado que o ozônio seja veiculado com óleo²⁰, sua

capacidade antimicrobiana é aumentada quando administrado com veículos oleosos e os resultados mostram-se promissores quanto a sua utilização como medicação intracanal.²¹ Porém não é interessante utilizar óleo ozonizado ou qualquer tipo de óleo em abundância no tratamento dentário uma vez que a dentina contaminada com óleo tem metade da força de adesão que a dentina que não foi contaminada.²²

Gás ozônio é mostrado como mais eficaz, tendo alta capacidade antimicrobiana²⁴, o que pode ser entendido principalmente pela concentração de ozônio ser superior. Apesar disso, o foco do trabalho foi de analisar e comparar soluções irrigadoras. Uma vez que o gás ozônio não consegue retirar *debris* dentinárias deve ser considerado complementar no tratamento de canais, não como solução irrigadora. Da mesma forma, a clorexidina gel também devem ser vista como complementar pois sua viscosidade dificulta o escoamento, turbilhonamento de fluxo e a penetração nos canais radiculares e estruturas anatômicas como istmos e canais acessórios, o que impacta em uma menor retirada de *debris* e maior dificuldade de se levar a substância antimicrobiana a áreas de difícil acesso do sistema de canais radiculares.¹⁷

É importante entender também a necessidade de um turbilhonamento de fluxo, e que sua eficiência está diretamente ligada com o escoamento da substância. O escoamento é diretamente proporcional a velocidade de distribuição e penetração da solução irrigadora dentro de estruturas mais complexas e distantes da luz do canal e maior a limpeza mecânica do próprio movimento da substância irrigadora.¹⁷ Isso explica o resultado da água destilada neste trabalho, o simples fato de ter alto escoamento com alta velocidade de distribuição, causou a retirada mecânica das bactérias daquele meio por um turbilhonamento que fez com que a população inicial bacteriana fosse menor do que no sexto grupo, em que não houve

intervenção e, por isso, o menor crescimento quando comparado a ambos os grupos após 48 e 72 horas.

Os resultados desse trabalho apontam que a irrigação com água ozonizada não foi plenamente eficaz contra *E. faecalis* o que corrobora com o trabalho de Nogales, 2014 ²³ que mostra que a água consegue reter menores concentrações de gás ozônio, por conta da sua baixa viscosidade e da instabilidade do gás, e que certas concentrações diminutas desse gás na solução tem ação bactericida efetiva contra *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* mas não contra *E. faecalis*. O estudo de Eick, 2011 ²⁴ relata que o ozônio foi mais ativo contra as principais espécies periodontopatogênicas em comparação com espécies superinfeciosas. Conquanto, o trabalho de Pinheiro em molares humanos mostra que quando associados a instrumentação, a água ozonizada foi semelhante a clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2,5% quanto a redução da população microbiana contendo *E. faecalis*, *S. mutans*, e *C. albicans*, tratando a água ozonizada como uma possível opção para o tratamento de canais. ⁸

No trabalho de Cardoso, 2008 ²⁵ foram realizadas duas coletas e análises em dois tempos distintos, sendo uma imediatamente após a utilização da solução e a segunda sete dias após e concluiu-se que a água ozonizada tem pouco efeito residual em sua ação antimicrobiana. Imediatamente após o uso da solução ela teve excelente efeito antimicrobiano, mas que não se sustentou com o tempo o que pode ser explicado pela volatilidade do ozônio. ²⁵ Nesta pesquisa os resultados do ozônio podem ter sido mostrados baixos pelo tempo da coleta para análise, considerando que a solução aquosa 48 horas depois não continha mais presença alguma de gás ozônio. É compreensível os resultados semelhantes quanto ao crescimento bacteriano do grupo que utilizou água ozonizada com o grupo que usou água destilada.

Além de tudo já considerado, o alto valor de aquisição do aparelho gerador de ozônio, a complexidade da utilização de mais um aparelho na clínica odontológica e o tempo maior para preparo dessa substância, quando comparado ao uso do digluconato de clorexidina e do hipoclorito de sódio, pode tornar o uso do ozônio menos atrativo para especialistas em endodontia. Porém, considerando casos complexos de retratamentos, em que o protocolo convencional já falhou, é compreensível a necessidade de associação de outros meios possíveis e seguros para que se consiga o resultado desejável.¹

Pensando nessa lógica é aberta a possibilidade de se associar uma dessas duas soluções com o complemento do gás ozônio no sistema de canais para combater infecções. Lembrando que por associação depreende-se que deve ser feita a aplicação do ozônio separada da aplicação da solução irrigadora e não a mistura do gás com qualquer uma das soluções, levando em consideração que o ozônio tem maior concentração em sua forma gasosa. Entretanto, o hipoclorito de sódio leva a decomposição do ozônio em oxigênio, diminuindo significativamente sua eficácia, logo não sendo recomendada sua associação.²⁶ Porém, com a clorexidina é o oposto, no estudo de Noites²⁷ a associação de clorexidina 2% com o gás ozônio apresenta vantajoso sinergismo, eficaz contra *C. albicans* e *E. faecalis*. “O sinergismo obtido pode ser explicado pelo modo de ação distinto. Tanto o ozônio quanto a clorexidina despolarizam as células de maneira dose-dependente.” (Noites, 2014). A associação do hipoclorito de sódio e clorexidina também foi levantada, contudo, a mistura de hipoclorito de sódio com clorexidina é contra-indicada pois diminui o potencial antimicrobiano de ambas substâncias e gera um precipitado de para-cloroanilina, possível agente carcinogênico.^{28, 29}

Em termos de eficácia antimicrobiana o hipoclorito de sódio a 2,5%, hipoclorito de sódio 5% e clorexidina 2% foram semelhantes entre si. Oliveira, 2003¹⁷ utilizando-se de uma

releitura, com cones de papel absorvente estéreis, da técnica de disco de papel para difusão em BHI ágar com crescimento de *E. Faecalis* mostrou que a ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio 1% é muito menor que a 2,5%.¹⁷ O hipoclorito de sódio por sua vez dissolve matéria orgânica, sendo mais efetivo com dissolução do biofilme que a clorexidina.^{19,30} Porém a dissolução do biofilme é diretamente ligada com a concentração, tempo de contato e volume da solução com biofilme.^{30,31}

Dessa forma compreende-se a elevada utilização do hipoclorito de sódio, pois alcança áreas de difícil acesso como istmos e canais acessórios e dissolve o biofilme. Porém, quanto maior sua concentração, maior o grau de erosão dentinária observada do interior do canal, o que pode levar a um enfraquecimento da estrutura dentária.³² Além disso, também existe o risco de acidentes com extravasamento da solução, que ocorre com relativa frequência.³³ O ajuste entre tempo, volume e concentração deve ser realizado de forma consciente e ponderada.³⁰

Clorexidina é mais segura pois possui baixa toxicidade⁷, porém pode levar a resistência antimicrobiana, que é um problema que vem preocupando quanto ao uso no geral da substância, não apenas na odontologia. Exposições a concentrações sub-letais ou tratamentos ineficazes, podem aumentar a resistência bacteriana³⁴. Levando isso em consideração, pode-se especular que o mal uso do digluconato de clorexidina em tratamentos comuns pode levar a resistência bacteriana de alguns gêneros microbianos e por vez complicações nas ações de tratamento tomadas posteriormente caso haja falha primária na terapêutica.

Nagayoshi mostrou através da microscopia de fluorescência que ao utilizar o ultrassom os túbulos dentinários foram invadidos com maior vigor por água ozonizada, aumentando o seu potencial antimicrobiano no geral.³⁵ Neste estudo a utilização de agitadores mecânicos não impactou

diretamente no aumento da capacidade antimicrobiana de nenhuma das soluções utilizadas, isso pode ser compreendido pelo entendimento do uso desses instrumentos endodônticos e a metodologia aplicada no estudo. O ultrassom e os dispositivos de plásticos (*Easy Clean*), parecem ter papel significativo quanto a penetração da substância nos túbulos dentinários, em estruturas complexas como istmos e canais colaterais e na retirada de debris dentinários da luz do canal.^{9, 35, 36} A metodologia quantificou as bactérias viáveis coletadas da luz do canal radicular após a irrigação, por isso não avaliou a capacidade antimicrobiana indireta das soluções irrigadoras, ou seja, aquela causada por espalhar a solução pelo interior do canal e túbulos dentinários por meio da infiltração da substância. Entende-se que a utilização desses dispositivos de agitação está mais ligada a ação de escoamento da substância do que a capacidade em aumentar quimicamente a potência antimicrobiana da mesma.

CONCLUSÃO

De acordo com os testes realizados conclui-se que nenhuma solução irrigadora consegue eliminar completamente as cepas de *E. Faecalis* dentro do sistema de canais radiculares.

Utilizando um volume de 20 ml durante 20 minutos de irrigação, o hipoclorito de sódio nas concentrações de 2,5%, 5% e a clorexidina 2% apresentam semelhantes efeitos antimicrobianos residuais contra *E. Faecalis*. A água ozonizada por sua vez não apresentou efeito residual contra *E. Faecalis*.

O uso dos dispositivos de agitação não evidenciou no presente trabalho o aumento no potencial antimicrobiano na luz do canal.

REFERÊNCIAS

- 1- Lopes H, Siqueira JF Jr. Irrigação dos canais radiculares. Endodontia: Biologia e técnica. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2015. p. 887-944.
- 2- Estrela C, Estrela CR, Decurcio DA, Hollanda AC, Silva JA. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *Int Endod J* 2007;40:85-93.
- 3- Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006;32:389-98.
- 4- Gomes BP, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Ferraz CC, et al. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J* 2013;24:89-102.
- 5- Srinivasan K., Chitra S. The Application of Ozone in Dentistry: A Systematic Review of Literature. *Sch. J. Dent. Sci.*, 2015; 2(6):373-377.
- 6- Viebahn-Hänsler R, Fernández OSL, Ziad F. Ozone in Medicine: The LowDose Ozone Concept—Guidelines and Treatment Strategies. *Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association* 2012, 34:6, 408-424.
- 7- Mohammadi Z, Shalavi S, Soltani MK, Asgary S. A review of the properties and applications of ozone in endodontics: An update. *Iran Endod J* 2013;8:40-3.
- 8- Pinheiro SL, Silva CC, Silva LA, Cicotti MP, Silveira Bueno CE, Fontana CE, et al. Antimicrobial efficacy of 2.5% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, and ozonated water as irrigants in mesiobuccal root canals with severe curvature of mandibular molars. *Eur J Dent.* 2018. Jan-Mar;12(1):94-99.
- 9- Vivian RR, Duque JA, Alcalde MP, Só MVR, Bramante CM, Duarte MAH. Evaluation of Different Passive Ultrasonic Irrigation

Protocols on the Removal of Dentinal Debris from Artificial Grooves. *Braz. Dent. J.* v.27, n. 2, p. 568-572, Mar./Apr. 2016.

10- Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. Ph changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *J Endod*, 1980; 7:17-21.

11- Byström A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol*, 1985; 1: 170-.

12- Rôças IN, Jung IY, Lee CY, Siqueira JF Jr. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in South Korean population. *J Endod*, 2004; 30: 504-8.

13- Siqueira JF Jr., Rôças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2004; 97: 85-94.

14- Rôças IN, Siqueira JF Jr., Santos KR. Association of *Enterococcus Faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod*, 2004; 30: 315-20.

15- Duque JA, Duarte MAH, Canali LCF, Zancan RF, Vivan RR, Bernardes RA, et al. Comparative Effectiveness of New Mechanical Irrigant Agitating Devices for Debris Removal from the Canal and Isthmus of Mesial Roots of Mandibular Molars. *J Endod*, 2017 43(2), 326–331.

16- Jayakumar S. Components, Principle and Applications of UV Vis-Spectrophotometer. Research gate. 2016.

DOI:10.13140/RG.2.1.1142.6805. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/305402942_Component s_Principle_and_Applications_of_UV_Vis-Spectrophotometer](https://www.researchgate.net/publication/305402942_Component_s_Principle_and_Applications_of_UV_Vis-Spectrophotometer)

17- Oliveira LA, de Toledo OA, de Melo NS. Avaliação das propriedades físicas, químicas e antimicrobianas do hipoclorito de sódio, 1% e 5%, da clorexidina 2%, aquosa e gel, e do HCT20, substâncias auxiliares na terapia do sistema de canais. [Tese]. Brasília - Brasil: Universidade de Brasília, 2003.

- 18- Estrela C, Silva JA, Alencar AHG de, Leles CR, Decurcio DA. Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*: a systematic review. *J Appl oral sci*, 2018. 16(6), 364–368.
- 19- Del Carpio-Perochena AE, Bramante CM, Duarte MAH, Cavenago BC, Villas-Boas MH, Graeff MS, et al. Biofilm Dissolution and Cleaning Ability of Different Irrigant Solutions on Intraorally Infected Dentin. *J Endod* 2011, 37(8), 1134–1138.
- 20- Siqueira Junior JF, Rôças IN, Cardoso CC, Macedo SB, Lopes HP. Efeitos antibacterianos de um novo medicamento - óleo ozonizado- comparados às pastas de hidróxido de cálcio. *Rev. Bras. Odont.* 2000, 57 (4), 252-6.
- 21- Silveira AMV, Lopes HP, Siqueira Jr JF, Macedo SB, Consolaro A. Periradicular repair after two-visit endodontic treatment using two different intracanal medications compared to single-visit endodontic treatment. *Braz Dent J* 2007, 18(4), 299–304.
- 22- Matos AB, Oliveira DC, Vieira SN, Netto NG, Powers JM. Influence of oil contamination on in vitro bond strength of bonding agents to dental substrates. *Am J Dent.* 2008;21(2):101–4.
- 23- Nogales CG, Ferreira MB, Lage-Marques JL, Antoniazzi JH. Comparison of the antimicrobial activity of three different concentrations of aqueous ozone on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis* – in vitro study. *Revista Española de Ozonoterapia* 2014, Vol. 4, nº 1, pp. 9-15.
- 24- Eick S, Tigan M, Sculean A. Effect of ozone on periodontopathogenic species—an in vitro study. *Clin Oral Invest* 2011 16(2), 537–544.
- 25- Cardoso MG, Oliveira LD, Koga-Ito CY, Jorge AO. Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;105:e85-91.

- 26- Razumovskii SD, Konstantinova ML, Grinevich TV, Korovina GV, Zaitsev VYa. Mechanism and kinetics of the reaction of ozone with sodium chloride in aqueous solutions. *Kinetics and Catalysis* 2010 51. 492-496.
- 27- Noites R, Pina-Vaz C, Rocha R, Carvalho MF, Gonçalves A, Pina-vaz I. Synergistic Antimicrobial Action of Chlorhexidine and Ozone in Endodontic Treatment. *BioMed Research International*, 2014, 1–6.
- 28- Basrani BR, Manek S, Sodhi RNS, Fillery E, Manzur A. Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate. *J Endod* 2007, 33(8), 966–969.
- 29- Barbin EL. Análise química da clorexidina misturada ou não ao hidróxido de cálcio. [Tese]. Ribeirão Preto – Brasil: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, 2008.
- 30- Rodrigues CT, de Andrade FB, de Vasconcelos LRSM, Midena RZ, Pereira TC, Kuga MC, et al. Antibacterial properties of silver nanoparticles as a root canal irrigant against *Enterococcus faecalis* biofilm and infected dentinal tubules. *Int Endod J*, 2018 51(8), 901–911.
- 31- Petridis X, Busanello FH, Só MVR, Dijkstra RJB, Prashant SK, van der Sluis LWM. Factors affecting the chemical efficacy of 2% sodium hypochlorite against oral steady-state dual-species biofilms: exposure time and volume application. *Int Endod J*. 2019, Feb 26.
- 32- Renovato SR, de Oliveira MM, de Siqueira PC, Silva JA, Decurcio DA. Análise da erosão da dentina radicular após irrigação com hipoclorito de sódio em diferentes concentrações por meio de microscopia eletrônica de varredura. *Rev Odontol Bras Central* 2017, 26(79): 26-31.
- 33- Guivarc'h M, Ordioni U, Ahmed HMA, Cohen S, Catherine JH, Bukiet F. Sodium Hypochlorite Accident: A Systematic Review. *J Endod* 2017, 43(1), 16–24.

34- Kampf G. Acquired resistance to chlorhexidine – is it time to establish an “antiseptic stewardship” initiative? *Journal of Hospital Infection* 2016, 94(3), 213–227.

35- Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial Effect of Ozonated Water on Bacteria Invading Dentinal Tubules. *J Endod* 2004, 30(11), 778–781.

36- Duque JA, Bramante CM. Avaliação da limpeza de debris do canal e do istmo de raízes mesiais de molares inferiores proporcionada por diferentes métodos de agitação do irrigante: PUI, Endoactivator e Easy Clean. [Tese]. Bauru – Brasil: Universidade de São Paulo, 2016.

NORMAS DA REVISTA

Revista: Dental Press Endodontics

<https://www.dentalpresspub.com/br/endo>

Formatação dos manuscritos

Submeta os artigos usando o *website*:

www.dentalpressjournals.com.br

Organize sua apresentação como descrito a seguir

1. Autores

— O número de autores é ilimitado; entretanto, artigos com mais de 4 autores deverão informar a participação de cada autor na execução do trabalho.

2. Página de título

— Deve conter título em português e em inglês, resumo e *abstract*, palavras-chave e *keywords*.

— Não devem ser incluídas informações relativas à identificação dos autores (por exemplo: nomes completos dos autores, títulos acadêmicos, afiliações institucionais e/ou cargos administrativos). Elas deverão ser incluídas apenas nos campos específicos no *site* de submissão de artigos. Assim, essas informações não estarão disponíveis para os revisores.

3. Resumo/Abstract

— Os resumos estruturados, em português e inglês, de 250 palavras ou menos são os preferidos.

— Os resumos estruturados devem conter as seções: INTRODUÇÃO, com a proposição do estudo; MÉTODOS, descrevendo como o mesmo foi realizado; RESULTADOS, descrevendo os resultados primários; e CONCLUSÕES,

relatando, além das conclusões do estudo, as implicações clínicas dos resultados.

— Os resumos devem ser acompanhados de 3 a 5 palavras-chave, também em português e em inglês, adequadas conforme orientações do DeCS (<http://decs.bvs.br/>) e do MeSH (www.nlm.nih.gov/mesh).

4. Texto

— O texto deve ser organizado nas seguintes seções: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Referências, e Legendas das figuras.

— Os textos devem ter no máximo 3.500 palavras, incluindo legendas das figuras e das tabelas (sem contar os dados das tabelas), resumo, *abstract* e referências.

— As figuras devem ser enviadas em arquivos separados (leia mais abaixo).

— Insira as legendas das figuras também no corpo do texto, para orientar a montagem final do artigo.

5. Figuras

— As imagens digitais devem ser no formato JPG ou PNG, em RGB ou tons de cinza, com pelo menos 7 cm de largura e 300 DPIs de resolução.

— Devem ser enviadas em arquivos independentes.

— Se uma figura já foi publicada anteriormente, sua legenda deve dar todo o crédito à fonte original.

— Todas as figuras devem ser citadas no texto.

6. Gráficos e traçados cefalométricos

— Devem ser citados, no texto, como figuras.

— Devem ser enviados os arquivos que contêm as versões originais dos gráficos e traçados, nos programas que foram utilizados para sua confecção.

— Não é recomendado o envio dos mesmos apenas em formato de imagem *bitmap* (não editável).

— Os desenhos enviados podem ser melhorados ou redesenhados pela produção da revista, a critério do Corpo Editorial.

7. Tabelas

— As tabelas devem ser autoexplicativas e devem complementar, e não duplicar, o texto.

— Devem ser numeradas com algarismos arábicos, na ordem em que são mencionadas no texto.

— Forneça um breve título para cada tabela.

— Se uma tabela tiver sido publicada anteriormente, inclua uma nota de rodapé dando crédito à fonte original.

— Apresente as tabelas como arquivo de texto (Word ou Excel, por exemplo), e não como elemento gráfico (imagem não editável).

8. Comitês de Ética

— Os artigos devem, se aplicável, fazer referência ao parecer do Comitê de Ética da instituição.

9. Declarações exigidas

Todos os manuscritos devem ser acompanhados das seguintes declarações:

— Cessão de Direitos Autorais

Transferindo os direitos autorais do manuscrito para a Dental Press, caso o trabalho seja publicado.

— Conflito de Interesse

Caso exista qualquer tipo de interesse dos autores para com o objeto de pesquisa do trabalho, esse deve ser explicitado.

— Proteção aos Direitos Humanos e de Animais

Caso se aplique, informar o cumprimento das recomendações dos organismos internacionais de proteção e da

Declaração de Helsinki, acatando os padrões éticos do comitê responsável por experimentação humana/animal.

— Permissão para uso de imagens protegidas por direitos autorais, Ilustrações ou tabelas originais, ou modificadas, de material com direitos autorais devem vir acompanhadas da permissão de uso pelos proprietários desses direitos e pelo autor original (e a legenda deve dar corretamente o crédito à fonte).

— Consentimento Informado

Os pacientes têm direito à privacidade que não deve ser violada sem um consentimento informado. Fotografias de pessoas identificáveis devem vir acompanhadas por uma autorização assinada pela pessoa ou pelos pais ou responsáveis, no caso de menores de idade. Essas autorizações devem ser guardadas indefinidamente pelo autor responsável pelo artigo. Deve ser enviada folha de rosto atestando o fato de que todas as autorizações dos pacientes foram obtidas e estão em posse do autor correspondente.

10. Referências

— Todos os artigos citados no texto devem constar na lista de referências.

— Todas as referências devem ser citadas no texto.

— Para facilitar a leitura, as referências serão citadas no texto apenas indicando a sua numeração.

— As referências devem ser identificadas no texto por números arábicos sobrescritos e numeradas na ordem em que são citadas.

— As abreviações dos títulos dos periódicos devem ser normalizadas de acordo com as publicações “Index Medicus” e “Index to Dental Literature”.

— A exatidão das referências é responsabilidade dos autores e elas devem conter todos os dados necessários para sua identificação.

— As referências devem ser apresentadas no final do texto obedecendo às Normas Vancouver (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).