



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

GIOVANNA DORNELAS MANTOVANI

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES
SOLUÇÕES IRRIGADORAS SOBRE BIOFILME MULTIESPÉCIE COM
POTENCIAL UTILIZAÇÃO NA TERAPIA ENDODÔNTICA: ESTUDO *EX
VIVO***

PIRACICABA

2020

GIOVANNA DORNELAS MANTOVANI

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES
SOLUÇÕES IRRIGADORAS SOBRE BIOFILME MULTIESPÉCIE COM
POTENCIAL UTILIZAÇÃO NA TERAPIA ENDODÔNTICA: ESTUDO *EX
VIVO***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Cirurgião Dentista.

Orientador: Profa. Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes

Coorientadores: Rodrigo Arruda Vasconcelos e Lidiane Mendes Louzada

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO PELA ALUNA GIOVANNA DORNELAS MANTOVANI E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES

PIRACICABA

2020

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

M319a Mantovani, Giovanna Dornelas, 1996-
Avaliação da atividade antimicrobiana de diferentes soluções irrigadoras sobre biofilme multiespécie com potencial utilização na terapia endodôntica : estudo *ex vivo* / Giovanna Dornelas Mantovani. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes.
Coorientadores: Rodrigo Arruda Vasconcelos e Lidiane Mendes Louzada.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Endodontia. 2. Bactérias. 3. Irrigantes do canal radicular. I. Gomes, Brenda Paula Figueiredo de Almeida. II. Vasconcelos, Rodrigo Arruda, 1988-. III. Louzada, Lidiane Mendes, 1993-. IV. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. V. Título.

Informações adicionais, complementares

Título em outro idioma: Evaluation of antimicrobial activity of different irrigating solutions on multispecies biofilm with potential use in endodontic therapy: *ex vivo* study

Palavras-chave em inglês:

Endodontic

Bacteria

Root canal irrigants

Titulação: Cirurgião-Dentista

Data de entrega do trabalho definitivo: 27-11-2020

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, em especial aos meus pais, pelo incansável apoio dado a mim durante toda a graduação; sem a dedicação, apoio, amor e carinho de vocês eu não teria conseguido chegar até aqui.

Dedico também aos meus queridos amigos e colegas de trabalho por todo companheirismo e ajuda durante todos esses anos.

E por fim, à minha orientadora Prof.^a Dr.^a Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes; por todo ensinamento junto aos queridos Lidiane Mendes Louzada e Rodrigo Arruda Vasconcelos.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, inicialmente, por ter me fornecido saúde e discernimento para trilhar o caminho que me foi proposto e chegar aqui enfrentando toda e qualquer dificuldade.

Aos meus **pais, Eliana e Marcelo, e familiares**, que me deram todo o apoio psicológico e financeiro durante todos esses anos, além de toda palavra de conforto, amor e segurança. Estou ciente de toda dificuldade que passaram para que eu chegasse até aqui, e concluo que sem vocês eu não seria nada.

Às agências de fomento: **Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UNICAMP (PIBIC/CNPq); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundo de Apoio ao Ensino à Pesquisa e à Extensão Pró Reitoria de Pesquisa (FAEPEX)**, pelos auxílios financeiros para que fosse possível a realização e conclusão dessa pesquisa.

À **Prof.^a Dr.^a Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes**, pela excelente orientação desse trabalho, além de seus ensinamentos e confiança depositada em mim. Gostaria de agradecer a oportunidade que me proporcionou e por me inspirar dentro dessa área de grande importância para a Odontologia.

Aos meus coorientadores **Lidiane Mendes Louzada e Rodrigo Arruda Vasconcelos** por todo apoio, ensinamento, dedicação e auxílio em cada etapa dessa pesquisa. Desde o início me incentivando, marcando reuniões, atendendo aos meus pedidos e me acompanhando no laboratório até tarde da noite por diversas vezes. Vocês são excepcionais e inspiração para mim.

Ao **Dr Phillip L. Tomson e Prof Paul R Cooper**, pelo fornecimento das substâncias utilizadas no projeto e pela parceria no trabalho.

À **Faculdade de Odontologia de Piracicaba**, na pessoa do seu Diretor, **Prof. Dr. Francisco Haiter Neto**, pela infraestrutura e todo apoio didático e burocrático para realização do projeto.

Aos **meus amigos do 121 e parceiros de curso** por todo apoio, amizade e companheirismo ao longo de todos esses anos; em especial à **Iris Godói** por ser a primeira pessoa a ter me recebido, desde o primeiro dia me orientando e ajudando. Sou muito grata pela nossa amizade por tudo o que já fez por mim, sendo amiga, irmã, mãe e até professora. **Amanda Coli**, minha eterna companheira de casa, você foi muito importante na minha vida

em todos esses anos e pra minha evolução. Te considero família e saiba que sem você tudo seria diferente; **Leticia Sandoli**, por ser minha parceira de atlética e problemas pessoais; **Livia Guimarães**, por me entender e julgar o que era necessário, no que fosse preciso; **Ana Vitória Missiatto**, por todas as madrugadas de estudo e companheirismo; **Bruno Cazotti**, por todos os momentos vividos, desde lazer, à ajudas além de ter se tornado uma das pessoas mais importantes da minha vida; **João Pedro Marcatto**, por ser super parceiro e descontraído; **Juliana Guarda**, por se parecer comigo tanto e tão pouco ao mesmo tempo; **Julia Gaspar**, por estar presente em tantos momentos; **Vitória Simões**, pelas noites de estudo e por se preocupar tanto com os amigos; **Maria Luiza Svicero**, que passou por tantos nervosismos e momentos felizes; **Julia Polisel**, por ser nosso suporte piracicabano; **Natália Félix**, por ter sido minha dupla de clínica mais atenciosa e paciente; **Marília Soares** por todas as discussões de trabalhos em grupo; **Lucas Almeida, Mônica Scarazatti e Janaina Cardoso** que em muitos momentos pararam para me ouvir e me auxiliar em meio à dificuldades, além de enfrentar todos os obstáculos juntos em meio a vivência que nos torna irmãos de vida.

Acrescento também o agradecimento ao meu parceiro e namorado **Carlos Almir Rodrigues de Carvalho** por fazer o papel de amigo, namorado e conselheiro em vários momentos da minha jornada.

Aos meus companheiros(as) de Atlética **Carlos Almir, Pedro Vidotto, Mariana Pallone, Pedro Ivo, Caio Hashizume, Gabriela Campos, Ana Flávia de Carvalho, Gabriel Candolato, Letícia Sandoli, Vitor Rodrigues, Gabriela Soffner, Thaís Matos, Samuel Galdino, Lucas Durão e Leonardo Fava** por todos os momentos de trabalho em equipe, admiração e aprendizado.

Às **minhas amigas de São Paulo**, em especial **Letícia Pires, Júlia Melo e Mariana Pinheiro**, que desde o ensino médio estão comigo para tudo, acreditando em mim. Me acompanhando e me acolhendo em todas as minhas idas e vindas dessa distância.

A todo o **corpo docente e funcionários** da FOP-UNICAMP que de alguma forma, ao longo desses 5 anos de curso, participaram de minha formação como profissional.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a efetividade de diferentes substâncias químicas auxiliares (SQA) como: ácido etidrônico (HEDP), hipoclorito de sódio (NaOCl), clorexidina (CLX), nos seguintes protocolos: (HEDP + NaOCl 2,5%, NaOCl 2,5%, CLX 2% e solução salina esterilizada) na redução da carga microbiana em canais radiculares ovalados, e sua capacidade de penetração no interior dos túbulos dentinários durante o tratamento endodôntico. Setenta e dois incisivos inferiores com canais ovalados foram contaminados com mistura de saliva e caldo de BHI (proporção de 3:1) por 21 dias a 37°C, sob agitação constante e centrifugação em dias alternados. Foram realizadas duas coletas microbiológicas: a primeira (C1) após o período de contaminação e a segunda (C2) após o preparo químico mecânico (PQM). A efetividade do PQM foi avaliada através do número de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) e das SQA através de microscopia confocal de varredura a laser. Todas as SQA foram eficazes na redução bacteriana tanto no lúmen quanto nos túbulos dentinários. A SS foi a solução com menor redução bacteriana. Em relação as demais soluções, o HEDP + NaOCl 2,5% apresentou maior redução de bactérias, entretanto, sem diferenças estatísticas. Concluindo, todas as soluções irrigadoras foram capazes de reduzir/eliminar bactérias do lúmen dos canais através do método da cultura. A associação do HEDP ao NaOCl 2,5% permitiu maior redução bacteriana no interior dos túbulos dentinários. A microscopia confocal de varredura a laser mostrou ser um método eficaz na avaliação da presença de bactérias no interior dos túbulos dentinários.

Palavras-chave: Endodontia. Bactérias. Irrigantes do canal radicular.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of different auxiliary chemicals substances (SQA) such as: etidronic acid (HEDP), sodium hypochlorite (NaOCl), chlorhexidine (CLX), in the following protocols: (HEDP + NaOCl 2.5%, NaOCl 2.5%, CLX 2% and sterile saline solution) in reducing microbial load in oval radicular canals, and its ability to penetrate the interior of the dentinal tubules during endodontic treatment. Seventy-two lower incisors with oval canals were contaminated with saliva mixture and BHI broth (ratio of 3:1) for 21 days at 37°C, under constant agitation and centrifugation on alternate days. Two microbiological collections were performed: the first (C1) after the contamination period and the second (C2) after mechanical chemical preparation (PQM). The effectiveness of PQM was evaluated by the number of colony-forming units per milliliter (CFU/mL) and SQA by confocal laser scanning microscopy. All substances were effective in bacterial reduction in both lumen and dentinal tubules. SS was the solution with the lowest bacterial reduction. In relation to the other solutions, the HEDP + NaOCl 2.5% showed a higher reduction of bacteria, however, without statistical differences. Thus, all irrigating solutions were able to reduce/eliminate bacteria from the lumen of the channels through the culture method. The association of HEDP with NaOCl 2.5% allowed greater bacterial reduction within the dentinal tubules. Confocal laser scanning microscopy proved to be an effective method in evaluating the presence of bacteria inside the dentinal tubules.

Key words: Endodontic. Bacteria. Root canal irrigants.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 Etiologia das infecções endodônticas	12
2.2 Importância do tratamento endodôntico	14
2.3 Efeito do preparo mecânico na evolução da instrumentação	15
2.4 Importância das substâncias químicas auxiliares	16
2.5 Características das soluções irrigantes	18
3 PROPOSIÇÃO	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Substâncias químicas auxiliares	22
4.2 Seleção e preparo dos espécimes	22
4.3 Preparo do inóculo e contaminação dos espécimes	23
4.4 Preparo químico-mecânico	24
4.5 Método de cultura microbiana	24
5 RESULTADOS	26
6 DISCUSSÃO	29
7 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	32
ANEXOS	36
Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio	36
Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa	37
Anexo 3 – Iniciação Científica	38

1 INTRODUÇÃO

Bactérias e seus subprodutos desempenham papel fundamental na indução e/ou perpetuação das doenças pulpares e periapicais (Takehashi et al., 1965; Gomes et al., 1994, 1996). A infecção endodôntica é polimicrobiana com presença de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, anaeróbios facultativos e estrictos (Gomes e Herrera, 2018; Arruda-Vasconcelos et al., 2020; Louzada et al., 2020). Espécies anaeróbias, particularmente Gram-negativas, têm sido associadas a sinais e sintomas na região periapical. Por outro lado, bactérias facultativas Gram-positivas, são frequentemente detectadas em casos de insucesso do tratamento endodôntico devido à sua capacidade de resistência (Barbosa-Ribeiro et al., 2016). Sendo assim, o sucesso do tratamento endodôntico depende da redução ou eliminação dos micro-organismos presentes no interior do sistema de canais radiculares através de um preparo químico-mecânico (PQM) efetivo (Gomes et al., 2003; Carvalho et al., 2019; Arruda-Vasconcelos, 2020; Louzada et al., 2020).

Embora diversos avanços no design dos instrumentos endodônticos tenham sido realizados nas últimas décadas, diversos estudos têm mostrado que uma completa de tecidos orgânicos e inorgânicos (De-Deus et al., 2010; Versiani et al., 2011) e bactérias (Barbosa-Ribeiro et al., 2019; Carvalho et al., 2019), não são alcançados. Canais radiculares ovalados representam um desafio clínico (De-Deus et al., 2010; Versiani et al., 2011). Esta configuração de canal radicular apresenta áreas de difícil acesso aos instrumentos endodônticos e, conseqüentemente, de difícil modelagem e obturação.

Atualmente, os mais novos sistemas de instrumentação dos canais radiculares tais como o Reciproc, realizam o movimento reciprocante (Barbosa Ribeiro et al., 2018; Carvalho et al., 2019; Arruda-Vasconcelos et al., 2019). Este movimento proporciona uma cinemática alternada de 150° no sentido anti-horário e 30° no sentido horário, diminuindo a incidência de fratura do instrumento. Além disso, os sistemas reciprocantes promovem menor extrusão de debris, são mais simples, necessitam de menor curva de aprendizado, e são mais rápidos e eficientes quando comparados aos sistemas rotatórios convencionais de múltiplas limas (Bürklein et al., 2014; De-Deus et al., 2015; Barbosa-Ribeiro et al., 2018).

Substâncias químicas auxiliares devem utilizadas durante o PQM com o objetivo de promover maior desinfecção dos canais radiculares. O hipoclorito de sódio (NaOCl) é a substância química auxiliar mais amplamente utilizada na prática endodôntica (Zehnder, 2006). NaOCl apresenta como principais vantagens ação antimicrobiana e capacidade de dissolver tecido orgânico, entretanto, apresenta alta citotoxicidade. Deste modo, a clorexidina (CLX) tem sido sugerida como uma alternativa ao NaOCl devido à suas características,

incluindo ação lubrificante, amplo espectro de ação, substantividade e menor toxicidade comparado ao NaOCl (Zehnder, 2006; Gomes et al., 2013).

Recentemente, o ácido etidrônico (HEDP) foi proposto para utilização durante o PQM. O HEDP é um quelante biocompatível que pode ser utilizado em associação ao NaOCl (Paulson et al., 2018). Este é um agente quelante leve e menos agressivo à dentina comparado ao EDTA (Lottanti et al., 2009). Assim, a associação entre o HEDP e o NaOCl tem sido proposta durante o tratamento endodôntico (Paulson et al., 2018).

Por se tratar de uma associação pouco estudada na Endodontia, a literatura é escassa em trabalhos envolvendo a associação entre HEDP ao NaOCl e CLX para a realização do tratamento endodôntico. Desta forma, o objetivo do presente estudo será de avaliar as propriedades antimicrobianas da associação entre o HEDP e NaOCl 2,5% e HEDP e CLX 2%.

Desta forma, o presente estudo avaliou a efetividade de diferentes substâncias químicas auxiliares (HEDP + NaOCl 2,5%, NaOCl 2,5%, HEDP + CLX 2%, CLX 2% e solução salina esterilizada) na redução da carga microbiana em canais radiculares ovalados, e avaliou a capacidade de penetração no interior dos túbulos dentinários destas substâncias químicas auxiliares durante a realização do tratamento endodôntico.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Etiologia das infecções endodônticas

A importância das bactérias no desenvolvimento das doenças pulpares e perirradiculares foi amplamente descrito na literatura. Kakehashi et al. 1965 expuseram polpas dentais de ratos convencionais e ratos germes free à cavidade bucal e observaram que na ausência de bactérias não houve progressão da doença e houve formação de pontes de dentina como tentativa de reparo. Por outro lado, os autores observaram que a presença de bactérias foi fundamental no desenvolvimento de doenças pulpares e periapicais constatado pelo aparecimento de zonas de necrose e micro abscesso.

Em 1976 Sundqvist et al. observaram as bactérias presentes em tecidos pulpares inflamados e consideradas importantes para o desenvolvimento de um processo inflamatório da polpa dental. No estudo, uma investigação bacteriológica da polpa necrosada foi realizada. Dente com coroas intactas foram selecionados. Embora houvesse grandes diferenças na composição microbiana de vários dentes, a análise mostrou que havia um grupo restrito de bactérias envolvidas na infecção das câmaras pulpares: *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* e *Campylobacter*. Foi observada a presença de inflamação periapical aguda definida através da sensibilidade, inchaço e exsudação em sete pacientes. Nestes casos, a composição bacteriana anaeróbia complexa estava presente. *Bacteroides melaninogenicus* estava presente em amostras de todos esses dentes, mas em nenhuma das amostras de dentes assintomáticos. Em conclusão, o autor do estudo mostra que a osteíte periapical está relacionada com a presença de bactérias no canal radicular e sugere que a inflamação periapical aguda é causada por uma microbiota complexa específica.

Em 1981, Miller et al. estudou em nove macacos a influência de bactérias orais nos tecidos periapicais e tecido pulpar necrótico. Setenta e oito dentes tiveram as polpas assepticamente necrosadas, dentre eles 26 das câmaras pulpares foram mantidas livres de bactérias por selamento, enquanto 52 foram infectadas pela microbiota oral nativa. Os resultados foram armazenados com dados clínicos, radiológicos e histológicos do início do estudo até 6-7 meses após. Os canais radiculares inicialmente não infectados se apresentaram estéreis nas amostras finais, sugerindo um baixo risco de contaminação dos canais radiculares destes dentes. O tecido pulpar necrótico não infectado não induziu nos tecidos periapicais nenhum tipo de reação inflamatória, porém, os dentes com tecido pulpar infectado mostraram reações inflamatórias clinicamente (12/52 dentes) e radiograficamente (47/52 dentes) nos tecidos periapicais. Foram frequentemente encontrados: *Streptococcus* facultativamente anaeróbios, bastonetes e cepas bacterianas anaeróbias. Nas amostras

finais, o número de cepas anaeróbias aumentou. Todos os dentes infectados examinados histologicamente revelaram reações inflamatórias na região periapical.

Gomes et al, em 1994, revelaram a importância da necessidade de determinar grupos particulares de bactérias que estão associadas com sintomas endodônticos e sinais clínicos. Foi realizada análise microbiológica de trinta canais radiculares os quais, quatorze estavam relacionados a dor, vinte com sensibilidade à percussão, vinte e três com canais úmidos, sete com edema, cinco com exsudato purulento e quatro com fístula. Assim, a relevância clínica e microbiológica está principalmente relacionada à dor, onde bactérias anaeróbias são isoladas em 93% dos canais radiculares com sintomatologia dolorosa e 53% dos canais radiculares assintomáticos. Canais radiculares associados a sintomatologia apresentaram em média 2,5 bactérias anaeróbias e 1,6 bactérias facultativas, enquanto a média de canais radiculares assintomáticos foi de 1,5 e 2,4, respectivamente.

Em 1996, Gomes et al. realizaram um estudo buscando determinar uma combinação de bactérias específicas em associação a sinais e sintomas individuais da polpa dentária. Setenta canais radiculares foram investigados microbiologicamente com o cuidado de manter a viabilidade de anaeróbios facultativos, que representaram 64% do total de espécies isoladas, incluindo *Streptococcus micro*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella oralis*, *Eubacterium aerofaciens*, *Eubacterium lentum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella nucleatum*, *intermedia*. Foram encontradas associações significativas: dor (37 casos) e *Peptostreptococcus spp./Prevotella spp.*, *Peptostreptococcus spp./Prevotella melaninogenica*, *Pstr. micros / Prev. melaninogenica*; inchaço (23 casos) e *Pstr. micros / Prevotella spp*; Canal 'úmido' (57 casos) e *Prevotella spp./Eubacterium spp*, *Streptococcus spp./Eubacterium spp*. Assim, os dados desta investigação sugerem que existem associações estatisticamente significativas entre os sintomas e sinais endodônticos individuais e combinações particulares de bactérias específicas.

Gomes e Herrera et al. também, em 2018, discutiram o papel etiológico de infecções do canal radicular na periodontite apical e sua relação com a sintomatologia clínica. Revelaram que alguns fatores microbianos como endotoxinas podem se disseminar pelos tecidos apicais dando suporte a uma infecção crônica, mostrando assim que o resultado da interação de fatores microbianos e a defesa do hospedeiro nos tecidos perirradiculares resultam na periodontite apical. Bactérias gram-negativas predominam nos canais radiculares de dentes com polpa necrosada e lesões periapicais. Entre os fatores de virulência das bactérias gram-negativas, os lipopolissacarídeos (LPS / endotoxinas) são especialmente importantes na infecção endodôntica por apresentarem efeitos deletérios, que levam a uma interação complexa com a resposta do hospedeiro, resultando em sintomatologia clínica,

reação inflamatória e reabsorção de tecidos mineralizados. Essa relação entre os fatores microbianos com a sintomatologia clínica é importante para estabelecer procedimentos terapêuticos mais adequados.

2.2 Importância do tratamento endodôntico

Arruda-Vasconcelos et al., em 2020, realizaram um estudo clínico que comprova que o perfil microbiano da dentina infectada e dos canais radiculares de dentes com pulpite irreversível é complexo, com diferentes espécies como Gram-negativas e positivas, coco e bacilos e anaeróbios facultativos e estritos. Foram realizadas análises do perfil microbiano e níveis de endotoxinas e ácido lipoteicoico nas três diferentes fases do tratamento endodôntico. Para a análise foi coletado de 10 pacientes com dentes com pulpite irreversível tanto a dentina infectada quanto amostras do canal radicular. O perfil microbiano foi analisado pelo *checkerboard DNA-DNA hybridization*, as endotoxinas pelo *Limulus Amebocytes Lisate* e os ácidos lipoteicóicos pelo teste ELISA. Os resultados mostraram uma microbiota polimicrobiana presente nos canais radiculares desses dentes além de mostrar a eficácia da instrumentação dos canais na redução das endotoxinas, ácido lipoteicóico e dos níveis microbianos.

Ainda sobre a avaliação do perfil microbiano e níveis de endotoxinas e ácido lipoteicóico, Louzada et al. (2020) relacionou esses níveis, em um estudo *in vivo* com dentes com polpa vital e doença periodontal associada. Foram coletadas amostras tanto da bolsa periodontal quanto do canal radicular nas três diferentes etapas do tratamento endodôntico: antes do preparo químico-mecânico, após o preparo químico-mecânico e após a medicação intracanal. Para a análise microbiológica, foram utilizadas nested PCR e *checkerboard DNA-DNA hybridization*. Os níveis de LPS e LTA foram avaliados usando *Limulus Amebocytes Lisate* e ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA), respectivamente. Os resultados mostraram uma íntima relação entre a microbiota presente nas bolsas periodontais com os canais radiculares. Nas amostras iniciais, 38 de 40 sondas foram detectadas nas bolsas periodontais e 12 das 40 sondas foram detectadas no canal radicular utilizando o método *checkerboard DNA-DNA hybridization*. Assim, os autores verificaram que de maneira geral o tratamento endodôntico é eficiente na modificação da microbiota do canal radicular e consequentemente da bolsa periodontal. Sendo assim, a microbiota também é polimicrobiana e o tratamento endodôntico é necessário para a redução microbiana de ambos os sítios.

Em 2016, Barbosa-Ribeiro et al. investigaram os níveis de ácido lipoteicóico e bactérias cultiváveis nas diferentes etapas do retratamento endodôntico de dentes com

periodontite apical em casos de insucesso do tratamento endodôntico, além de avaliar a presença de bactérias gram-positivas antes e após preparo químico-mecânico e após medicação intracanal. Vinte dentes unirradiculares foram divididos em dois grupos: um tratado com clorexidina gel 2% e o outro com hipoclorito de sódio 6%. As amostras foram coletadas com cones de papel absorvente nas três diferentes etapas do tratamento endodôntico e a medicação intracanal utilizada foi à base de hidróxido de cálcio com clorexidina gel 2%. Testes bioquímicos foram realizados para a identificação de microorganismos, enquanto as bactérias cultiváveis foram contadas por unidades formadoras de colônia e os níveis de ácido lipoteicóico por ensaio de ELISA. De 102 espécies isoladas, 70 eram espécies gram-positivas encontradas nos canais radiculares, e dentre elas a *Enterococcus faecalis* foi a bactéria mais encontrada em todas as fases do tratamento endodôntico. Houve redução bacteriana e de seus subprodutos após o tratamento endodôntico.

2.3 Efeito do preparo mecânico na evolução da instrumentação

De-Deus et al. (2010) determinou a qualidade da técnica de instrumentação F2 Pro-Taper de lima única, em relação a desbridamento, fazendo uma comparação com a técnica convencional completa Pro Taper em canais redondos e ovalados. Para o estudo, cinquenta e quatro incisivos inferiores, vitais, foram selecionados e classificados por meio de radiografias bidimensionais em redondos e ovais onde 24 eram redondos, 24 ovais e 12 eram controle. Assim, os dentes foram divididos em grupo 1, utilizando a gama completa dos instrumentos Pro Taper Universal em movimento rotatório apenas, e grupo 2 utilizando a técnica F2 Pro Taper com lima única em movimento alternativo. A fim de analisar o ápice desses dentes, após a instrumentação, as raízes foram desmineralizadas e 3 mm do ápice foram multi-fatiadas e processadas para exame histológico. A porcentagem de tecido pulpar residual (PRPT) foi calculada com auxílio de um software de análise de imagens. A análise de variância univariada foi usada para verificar as variáveis que influenciam o PRPT. Os resultados mostraram que em canais ovais o PRPT era significativamente maior em relação aos canais redondos em ambas as técnicas. A diferença entre o PRPT das técnicas dependeu da interação do formato do canal com a técnica utilizada, onde o grupo 1 mostrou consideravelmente menos PRPT em canais ovais do que o grupo 2, enquanto em canais redondos nenhuma diferença significativa foi encontrada entre as duas técnicas. Contudo, a técnica F2 ProTaper de arquivo único exibiu PRPT semelhante a gama completa de instrumentos ProTaper em canais redondos. No entanto, a qualidade de desbridamento da técnica F2 ProTaper de lima única foi otimamente eficaz em canais ovais.

Já em 2011, Versiani et al., através de um estudo de microtomografia computadorizada, demonstraram a preparação de canais radiculares ovais por meio de limas rotatórias e autoajustáveis (SAF). Foram utilizados na pesquisa quarenta incisivos inferiores os quais foram digitalizados antes e após os preparos e então divididos em dois grupos: dentes preparados pela lima rotatória e dentes preparados pelas limas autoajustáveis, e assim, qualquer mudança de forma, volume e área dos canais foram comparados com os valores pré-operatórios. Foi observado nos resultados que no terço coronal, a porcentagem de paredes preparadas e os aumentos médios de volume e área foram significativamente maiores com SAF (92,0%, $1,44 \pm 0,49$ mm, $0,40 \pm 0,14$ mm, respectivamente) do que a instrumentação rotatória (62,0 %, $0,81 \pm 0,45$ mm, $0,23 \pm 0,15$ mm, respectivamente). Com isso, foi possível demonstrar que o uso da lima autoajustável foi eficiente na remoção da camada de dentina de todo canal, enquanto a instrumentação rotatória mostrou áreas as quais não foram tocadas pelo instrumento. Com o uso de instrumentos da SAF, canais ovais achatados foram preparados de forma homogênea e circunferencial.

2.4 Importância das substâncias químicas auxiliares

Em 2018, Barbosa-Ribeiro et al. utilizou o protocolo de irrigação positiva e negativa para determinar a quantidade de debris extruídos apicalmente associando diferentes tipos de irrigantes. Foram divididos oito grupos com dez pré molares cada com canais únicos divididos de acordo com o sistema de irrigação e solução utilizados durante o preparo químico-mecânico. Os pesquisadores observaram que em todos os grupos foi observado extrusão de debris, porém, quanto aos grupos utilizando o Endovac houve uma menor quantidade de debris extruídos, mas sem diferença significativa quanto ao tipo de irrigante. Já em relação a irrigação convencional, quando utilizado com clorexidina gel 2%v + solução saliva, houve uma menor extrusão de debris. Portanto, nenhum protocolo de irrigação é capaz de impedir a extrusão de resíduos apicalmente, mas o uso do Endovac pode diminuir essa quantidade de resíduos em relação a irrigação convencional e o uso de clorexidina gel 2% + solução salina também se associou a uma menor extrusão de debris para os tecidos periapicais.

Em 2019, Arruda-Vasconcelos et al. avaliaram, após preparo químico-mecânico (PQM) associado a irrigação ultrassônica passiva (PUI), a quantidade de debris extruídos do forame apical de sessenta pré-molares inferiores com canal radicular reto, utilizando quatro diferentes tipos de irrigantes distribuídos em quatro grupos: G1 (PUI+NaOCl); G2 (PUI+CLXg2%+SS); G3 (PUI+CLXs2%); G4 (PUI+SS). Em todos os grupos, o PQM foi realizado com a lima Reciproc 25 (25/08) e os debris que foram extruídos em cada dente

foram coletados em tubos Eppendorf pré-pesados e secos. Os resultados mostraram que houve extrusão de debris em todos os grupos, independente do irrigante utilizado, porém, no G2 (PUI+CLXg 2%+SS) houve uma menor extrusão significativa em comparação com os outros grupos. Assim, concluíram que a irrigação ultrassônica passiva não impede essa extrusão quando utilizada isoladamente. A PUI associada a clorexidina gel 2% + a solução salina obteve uma menor quantidade de debris extruídos em comparação aos outros irrigantes.

Ferraz et al., em 2007 realizaram uma avaliação *in vitro* para analisar a eficácia antimicrobiana do gel de gluconato de clorexidina como substância química auxiliar comparada ao hipoclorito de sódio (NaOCl). A eficácia antimicrobiana das substâncias testadas foi avaliada através do teste de difusão em ágar. As espécies microbianas utilizadas neste estudo foram 5 bactérias anaeróbias facultativas e 4 anaeróbias gram-negativas pigmentadas comumente isoladas de canais radiculares infectados, sendo: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *S. sobrinus*, *Actinomyces naeslundii*, *Porphyromonas gingivalis*, *P. endodontalis*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella denticola*. Cada cepa microbiana foi avaliada com cada tipo de irrigante: gel de gluconato de clorexidina (0,2%, 1% e 2%); solução de gluconato de clorexidina (0,2%, 1% e 2%); e NaOCl (0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5,25%). O soro fisiológico foi usado como controle. A partir dos resultados obtidos os autores concluíram que o gel de clorexidina apresentou um grande potencial para ser utilizado como substância química auxiliar durante o tratamento endodôntico.

Barbosa-Ribeiro et al (2019), avaliaram a eficácia dos efeitos da medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio no conteúdo infeccioso de dentes com periodontite apical em casos de insucesso do tratamento endodôntico. Foi avaliado os níveis de bactérias, citocinas pró inflamatórias (PIC) e metaloproteinases de matriz (MMPs). Foram coletadas amostras de vinte canais radiculares e estes foram divididos em dois grupos de acordo com o irrigante utilizado durante a instrumentação. Os irrigantes foram clorexidina gel 2% e hipoclorito de sódio 6%. As coletas do material foram realizadas com pontas de papel absorventes antes do preparo químico-mecânico e após 30 dias da inserção da medicação intracanal. A redução microbiana foi mensurada por meio da contagem de unidades formadoras de colônia e as citocinas pró inflamatórias e metaloproteinases de matriz através do teste ELISA. Assim, os autores observaram que após a medicação houve uma redução na carga microbiana de 99,5% juntamente com a redução significativa de citocinas e metaloproteinases, mostrando o efeito benéfico da medicação à base de hidróxido de cálcio independente da solução irrigante, que obtiveram resultados semelhantes na presença da medicação. Em conclusão, dentes com insucesso do tratamento endodôntico e periodontite

apical e, conseqüentemente, com altos níveis de bactérias, PIC e MMPs, podem apresentar melhor prognóstico após 30 dias de medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio.

2.5 Características das soluções irrigantes

É de grande relevância a importância das substâncias químicas auxiliares utilizadas durante a instrumentação dos canais radiculares, dentre elas, são propostas: hipoclorito de sódio, clorexidina, EDTA 17%, ácido cítrico, MTAD e ácido fosfórico a 37%. Recentemente, o ácido etidrônico (HEDP) foi proposto para utilização durante o PQM. Estudos mostraram que grandes áreas de canal radiculares paredes permanecem intocadas durante a instrumentação manual ou rotatória durante o preparo do canal radicular. Isso mostra a importância da limpeza e desinfecção do sistema de canal radicular por meios químicos. Para isso, o uso combinado de duas ou mais soluções irrigadoras em uma sequência específica pode ser usada com o objetivo de aumentar a previsibilidade do tratamento endodôntico.

Em 2009, Lottanti et al. avaliaram os efeitos dos ácidos etilenodiaminotetracético (EDTA), etidrônico (EA) e peracético (PA) como agentes quelantes quando usados em conjunto com hipoclorito de sódio (NaOCl) como irrigantes do canal radicular na *smear layer* e desmineralização da dentina radicular após preparo químico-mecânico. Quarenta e oito pré molares unirradiculares foram divididos em grupos de acordo com a substância utilizada, onde o grupo 1 utilizou NaOCl 1% durante a instrumentação, água deionizada após a instrumentação, o grupo 2 usou NaOCl 1% durante, EDTA 17% após a instrumentação, grupo 3 a 1 : 1-mistura de NaOCl 2% e ácido etidrônico 18% durante e após a instrumentação, e grupo 4 NaOCl 1% durante, ácido peracético 2,25% após a instrumentação. Foram avaliados os níveis de cálcio eluído, áreas cobertas por *smear layer* e presença de desmineralizações da parede do canal. Assim, os avaliadores observaram que em comparação quanto à eluição de cálcio, o protocolo do grupo 1 rendeu mais cálcio que o grupo 3 que em questão rendeu menos que os grupos 2 e 4. A maioria das paredes dos canais que foram tratados com agentes descalcificantes estavam livres de *smear layer*. E apenas os grupos 2 e 4 demonstraram desmineralização típica da substância. Assim, todos os descalcificantes estudados mostraram eficácia na eliminação da *smear layer*.

Zollinger, em 2018, teve como alvo de estudos a solução HEDP associado ao NaOCl. Para o experimento, os pesquisadores utilizaram as misturas de soluções de NaOCl com HEDP Dual Rinse que foram preparadas para que inicialmente contivessem 5,0%, 2,5% ou 1,0% de NaOCl e sempre 9,0% de pó HEDP Dual Rinse dissolvido por peso total. NaOCl

foram utilizadas como controle. A estabilidade dessas soluções ao longo de 8 h foi avaliada em frascos de vidro transparentes à temperatura ambiente (23 °C). Posteriormente, os efeitos do aquecimento (60 °C) ou armazenamento das soluções a 5 °C foram estudados em seringas de polipropileno. Na garrafa de vidro a 23 °C, a solução 5,0% NaOCl / 9,0% HEDP perdeu 20% do cloro disponível após 1 h, enquanto as soluções correspondentes NaOCl 2,5% e NaOCl 1,0% mantiveram esta quantidade relativa de cloro disponível para 2 e 4 h, respectivamente. Os resultados apresentados nos frascos de vidro foram semelhantes aos das seringas. O aquecimento das misturas de NaOCl / Dual Rinse HEDP afetou adversamente o cloro disponível, que desapareceu completamente após 1 h. Em contrapartida, o armazenamento das misturas de NaOCl / Dual Rinse HEDP em um refrigerador a 5 °C manteve o cloro disponível em um nível mais alto por 7 h, com a perda esperada após mais uma hora de armazenamento a 23 °C. Então, Zollinger pôde concluir que a concentração inicial e a temperatura de NaOCl afetaram a estabilidade de armazenamento a curto prazo das soluções combinadas contendo HEDP.

Paulson et al., em 2018 iniciaram uma avaliação sobre o efeito de quelação alternada EDTA 17%, HEDP 9% e NaOCl a 2,5% quando utilizados com diferentes regimes de irrigação sobre a força de adesão em Biodentine. Para a realização do experimento, foram coletados 50 dentes permanentes com canais únicos e separados em 5 grupos. Todos foram instrumentados com limas rotatórias. O grupo controle foi irrigado com água durante e após o preparo. Os canais foram então preenchidos com Biodentine. Em uma secção horizontal de 1,5 mm de espessura foi retirada do terço médio da raiz e teste pushout foi realizado. O método de irrigação foi realizado da seguinte forma: Grupo 1. O grupo NaOCl: 5 mL de NaOCl 2,5% por 1 minuto após cada troca de instrumento / 5 mL de NaOCl 2,5% por 1 minuto / irrigação final com 5 mL de água destilada por 1 minuto; Grupo 2. O grupo NaOCl / EDTA / NaOCl: 5 mL de NaOCl 2,5% por 1 minuto após cada troca de instrumento / 5 mL de EDTA a 17% por 1 minuto / 5 mL NaOCl 2,5% por 1 minuto / irrigação final com 5 mL de água destilada 1 minuto; Grupo 3. O grupo NaOCl / EDTA: 5 mL de NaOCl 2,5% por 1 minuto após cada troca de instrumento / 5 mL EDTA a 17% por 1 minuto / irrigação final com 5 mL de água destilada por 1 minuto; Grupo 4. O grupo HEDP: 5 mL de NaOCl a 2,5% / HEDP 9% por 1 minuto após cada troca de instrumento / 5 mL de NaOCl a 2,5% / HEDP9% para 1 min / irrigação final com 5 mL de água destilada para 1 minuto; Grupo 5. O grupo de água destilada: 5 mL de água destilada por 1 minuto após cada mudança de instrumento / irrigação final com 5 mL de água destilada por 1 minuto. Os canais, então, posteriormente foram limpos e modelados usando o sistema rotatório ProTaper. Após a irrigação final, os canais foram secos com pontas de papel absorvíveis para a então inserção de Biodentine (misturado de acordo com o fabricante) e condensado nos canais. Obturadas as raízes foram então radiografadas

nas direções vestibulo-lingual e mesio-distal para assegurar que os canais fossem densamente obturados sem quaisquer vazios. Todos os dentes foram armazenados a 37 °C em 100% de umidade por 1 semana para permitir a presa completa de Biodentine. Pode-se verificar que a força de adesão do Biodentine foi influenciada diferencialmente pelos diferentes regimes de irrigação utilizados. O Grupo 4 (NaOCl 2,5% associado ao HEDP 9%) reforçou a adesão de Biodentine em comparação com os outros grupos com NaOCl sozinho ou EDTA com ou sem irrigação final. Contudo, o presente estudo mostrou que a remoção da *smear layer* tem correlação direta com a adesão da Biodentine à dentina radicular e que o protocolo de combinação do NaOCl com HEDP otimiza a qualidade dessa ligação.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a efetividade de diferentes substâncias químicas auxiliares (HEDP + NaOCl 2,5%, NaOCl 2,5%, HEDP + CLX 2%, CLX 2% e solução salina esterilizada) na redução da carga microbiana em canais radiculares ovalados, e avaliar a capacidade de penetração no interior dos túbulos dentinários destas SQA durante a realização do tratamento endodôntico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Aspectos éticos e local da pesquisa

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP (Protocolo número CAAE 34237020.7.0000.5418) (Anexo 1). A pesquisa foi realizada no Laboratório de Endodontia da FOP/UNICAMP.

4.1 Substâncias químicas auxiliares

Para a realização desta pesquisa, foram utilizadas as seguintes substâncias químicas auxiliares:

- 1) NaOCl 2,5%,
- 2) HEDP + NaOCl 2,5%,
- 3) HEDP + CLX 2%,
- 4) CLX 2%,
- 5) Solução salina esterilizada (controle) – SS.

O Dual Rinse®HEDP (MedCem, Viena, Áustria) é uma substância apresentada na forma de pó, contendo 0,9 g em cada cápsula. O fabricante sugere a mistura do pó em 10 mL de NaOCl.

NaOCl 2,5% e CLX 2% foram manipulados no dia anterior à sua utilização no laboratório, com o objetivo de garantir maior estabilidade dos materiais (Drogal Farma, Piracicaba, SP, Brasil).

4.2 Seleção e preparo dos espécimes

A seleção dos dentes envolvidos no estudo foi realizada de acordo com Silva et al., 2018; Barbosa-Ribeiro et al., 2018; Carvalho et al., 2019. Foram selecionados 72 incisivos inferiores com canais radiculares ovalados, com proporção do diâmetro do canal $\geq 2.5:1$ a 5 mm do ápice, que foram aleatoriamente distribuídos entre os grupos através de um algoritmo (<http://www.random.org>) de acordo com as substâncias químicas auxiliares propostas. Foram

realizadas tomadas radiográficas digitais no sentido mesio-distal e vestibulo-lingual para a comprovação de um único canal radicular.

O critério de exclusão foi: a) dentes com presença de cáries, b) trincas ou fraturas, c) dentes com ápice imaturo, d) dentes multi-radiculares, e) dentes com curvaturas acentuadas e f) dentes com tratamento endodôntico prévio. Foram realizados acessos coronários convencionais com brocas diamantadas esféricas (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil). Além disso, foi criado o glide-path através de limas tipo K número 15 (Dentsply Sirona, Ballaigues, Suíça) até o comprimento de trabalho (CT), que foi estabelecido no forame apical, ou seja, em toda a extensão do canal radicular. Este procedimento foi realizado sob irrigação com água destilada (5 mL) e, para a remoção da smear layer formada durante a instrumentação dos canais radiculares, foi utilizado EDTA 17% (3 mL por 3 min) em banho ultrassônico.

Em seguida, os dentes foram colocados em micro tubos de polietileno de 1,5 mL, individualmente, e imersos em caldo de Brain Heart Infusion (BHI – Difco, Kansas City, MO, EUA). Em seguida os dentes foram esterilizados em autoclave a 121 °C por 20 minutos.

4.3 Preparo do inóculo e contaminação dos espécimes

O preparo do inóculo proveniente da saliva foi baseado em estudo de Gomes et al. (2003). Resumidamente, 30 mL de saliva foi coletada de um voluntário às 8 da manhã no dia da troca de solução. Previamente à coleta, o doador de saliva foi orientado a não realizar higienização da cavidade oral por pelo menos 12 horas e para auxílio da coleta de saliva, o voluntário mastigou um pedaço de 1 g de Parafilm (American National Can™, Menasha, WI, EUA) com o objetivo de estimular o fluxo salivar. A saliva foi armazenada em frasco de vidro de 100 mL, de acordo com Magura et al. (1991).

O volume de inóculo (saliva + meio de cultura) foi de 1,5 mL. A proporção foi de 3 partes de saliva humana para 1 parte de caldo Brain Heart Infusion (BHI, Difco) (proporção 3:1). A mistura foi substituída a cada 72 horas. O período de contaminação foi de 21 dias, com o objetivo de permitir a maturação do biofilme e penetração nos túbulos dentinários.

Os espécimes foram incubados a 37 °C, diariamente, sob agitação constante (170 RPM) para verificar o aparecimento de turbidez no caldo BHI.

Após a renovação do inóculo foi realizada uma centrifugação a 9300 rpm para permitir a penetração dos microrganismos no interior dos túbulos dentinários.

4.4 Preparo químico-mecânico

Todos os procedimentos foram realizados no interior de uma câmara de fluxo laminar. O PQM foi realizado por um único operador com limas Reciproc R25 (VDW, GmbH, Munique, Alemanha) de uso único. O instrumento foi gentilmente inserido no terço cervical com movimento de inserção e remoção, com leve pressão apical, utilizando o movimento recíprocante ('RECIPROC ALL') do motor elétrico (VDW Silver GmbH, Munique, Alemanha). Este movimento foi realizado com pequena amplitude até atingir o comprimento de trabalho. Após 3 ciclos de inserção e remoção, o instrumento foi removido do canal radicular e limpo em gaze estéril.

Os dentes foram irrigados com as substâncias químicas auxiliares propostas, com o auxílio de uma seringa e agulha 30-G NaviTip (Ultradent, South Jordan, UT, EUA). A agulha de irrigação foi inserida 1 mm aquém do comprimento de trabalho. O volume total utilizado nos espécimes foi padronizado em 20 mL durante o PQM (Marinho et al., 2015). Os irrigados com NaOCl foram neutralizados com tiosulfato de sódio 5% e os grupos com CLX foram neutralizados com lecitina de soja 0,07% + teewn 80 0,5%.

Em seguida, foi realizada irrigação ultrassônica passiva (PUI) com 3 mL de EDTA 17% para remoção da smear layer com auxílio de inserto ultrassônico E1 (Irrisonic, Helse Dental Technology, Santa Rosa de Viterbo, São Paulo, Brasil) acoplado em um dispositivo piezoelétrico (Piezon 150, Electron Medical Systems, Nyon, Suíça). O inserto ultrassônico foi inserido 1 mm aquém do comprimento de trabalho e a substância química auxiliar contida no interior dos canais radiculares foi agitada passivamente a uma potência de 30% do dispositivo ultrassônico de maneira dinâmica. Este procedimento foi realizado por 3 ciclos de 20 segundos cada. Além disso, foram realizados movimentos curtos de inserção e remoção do inserto sem tocar as paredes dentinárias (Arruda-Vasconcelos et al., 2019). Durante todo o procedimento, a aspiração da substância química auxiliar foi realizada através de capillary tips (Ultradent Products INC, South Jordan, UT, EUA).

4.5 Método de cultura microbiana

Foram realizadas duas coletas microbiológicas. Uma logo após o período de contaminação por 21 dias, denominada coleta inicial (C1), com o objetivo de comprovar a eficácia da contaminação dos espécimes. A segunda coleta (C2) microbiológica foi realizada após o preparo químico-mecânico. Estas coletas foram realizadas com o objetivo de

determinar a redução da carga microbiana através do número de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) antes e após o preparo químico-mecânico.

A metodologia de microscopia confocal de varredura a laser foi utilizada para avaliar a penetração das substâncias químicas auxiliares no interior dos canais radiculares.

Após o PQM com as diferentes substâncias químicas auxiliares, os espécimes foram seccionados em hemi-cilindros (Bukkari et al., 2018) para análise em microscopia confocal de varredura a laser. Os espécimes foram imersos em corante LIVE/DEAD BacLight™ Bacterial Viability Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) por 20 minutos. Após esta aplicação as amostras foram lavadas em água deionizada por 10 segundos. O corante LIVE/DEAD BacLight™ Bacterial Viability Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) foi utilizado para identificar as baterias viáveis ou não dentro dos túbulos dentinários, permitindo inclusive avaliar a profundidade da contaminação pelo biofilme bacteriano.

As amostras foram analisadas em microscópio 3D de epifluorescência (Leica TCS-SP5, Heidelberg, Alemanha) que cria uma secção da amostra com o apropriado filtro de excitação e emissão (SYTO 9: λ ex485 nm/ λ em500 nm; Propidium iodide: λ ex535 nm/ λ em645 nm). Os fluoróforos SYTO 9 e Propidium iodide foram utilizados em uma proporção de 1:1. O Corante SYTO 9 permite corar as células viáveis na cor verde, enquanto o Propidium iodide permite corar as células com inatividade de membrana em vermelho.

Os dados foram analisados em software LAS-AF Leica SP5. Para evitar algum efeito toxico dos corantes as avaliações foram feitas 15 min após a aplicação do corante.

Para a análise estatística, dados referentes à cultura microbiológica e microscopia confocal de varredura a laser foram tabulados em planilha Excel (Microsoft, Redmond, WA, EUA) e estatisticamente analisados através do SPSS para Windows. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a normalidade dos dados. Em caso de distribuição normal dos dados, estes foram analisados utilizando testes paramétricos. Na ausência de normalidade, testes não paramétricos foram usados.

Os resultados das UFC/mL foram transformados em log10 para permitir a realização de testes paramétricos. Desta forma, Análise de Variância (ANOVA) e o teste de Tukey (post hoc) foram utilizados para verificar diferenças estatísticas entre os grupos nos diferentes tempos de coleta (C1 x C2) e diferenças estatísticas entre as soluções irrigadoras no mesmo tempo (C1 ou C2). Os resultados das porcentagens de células viáveis foram analisados através dos testes de Kruskal-Wallis e Dunn (post hoc). O nível de significância foi estabelecido em 5% para todas as análises ($P < 0,05$).

5 RESULTADOS

A associação entre HEDP e CLX 2% resultou na formação de um precipitado esbranquiçado, não permitindo adequada irrigação dos canais radiculares. Desta maneira, o grupo HEDP + CLX 2% foi excluída do estudo. Foram realizadas análises nos demais grupos propostos (HEDP + NaOCl 2,5%, NaOCl 2,5%, CLX 2% e SS).

Na cultura microbiana foi observado crescimento bacteriano em todos os canais radiculares dos grupos testados, NaOCl 2,5% ($7,59 \pm 0,25$), HEDP + NaOCl 2,5% ($7,53 \pm 0,28$), CLX 2% ($7,61 \pm 0,19$) e SS ($7,63 \pm 0,20$), sem diferença estatística entre os mesmos ($P > 0,05$). O grupo controle negativo não apresentou crescimento microbiano em nenhum momento, garantindo a efetividade do processo de esterilização dos espécimes e a realização dos procedimentos em condições assépticas.

Após os procedimentos endodônticos, ou seja, a comparação entre a coleta inicial (C1) e a coleta após o uso das soluções irrigadoras (C2), foi observada redução microbiana em todos os grupos, HEDP + NaOCl 2,5%, NaOCl 2,5%, CLX 2% e SS ($P < 0,05$). Entretanto, o grupo SS ($2,5 \pm 0,36$) UFC/mL apresentou maiores quantidades de bactérias após o tratamento endodôntico. Não foram observadas diferenças estatísticas (C2) entre NaOCl 2,5% e HEDP + NaOCl 2,5% ($P > 0,05$) e NaOCl 2,5% e CLX 2% ($P > 0,05$). Além disso, não houve diferença significativa entre NaOCl 2,5% + HEDP e CLX 2% ($P > 0,05$).

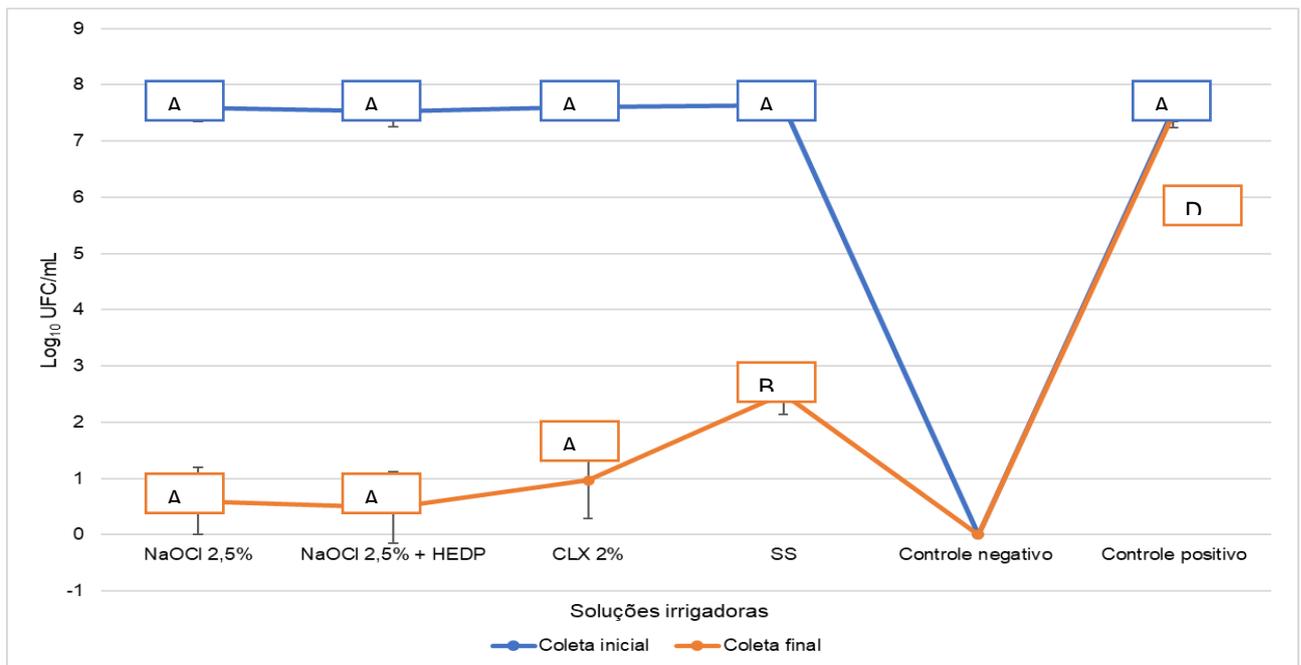


Figura 1 - Média e desvio padrão em \log_{10} do número de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) nas diferentes coletas microbiológicas. Letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre as soluções irrigadoras no mesmo tempo (C1 ou C2). Letras minúsculas indicam diferenças estatísticas entre as substâncias nos diferentes tempos (C1 x C2).

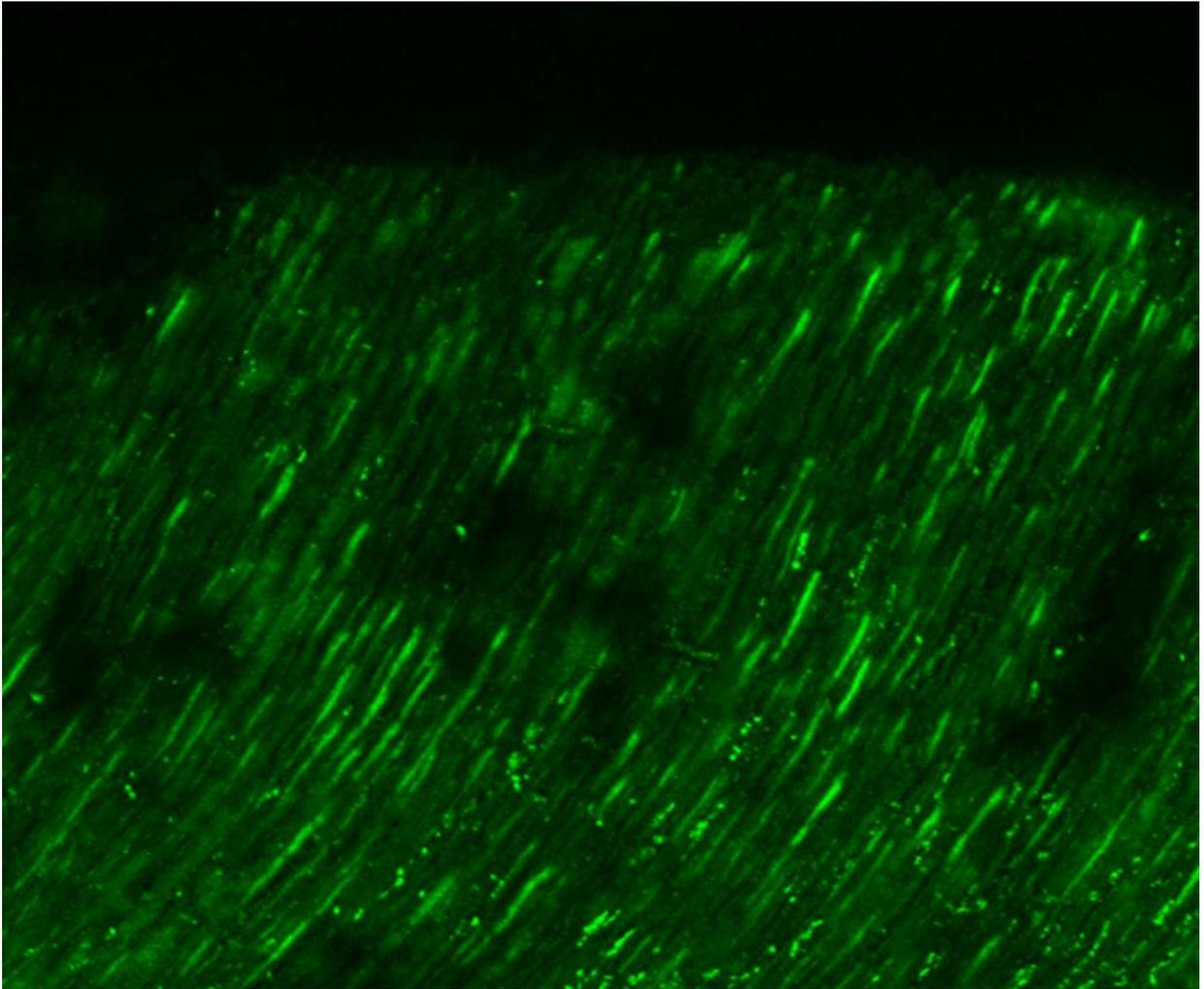


Figura 2 - Aspecto microbiológico após o período de colonização microbiana (21 dias) no interior dos túbulos dentinários evidenciando a presença de bactérias com paredes celulares íntegras (viáveis, verde) visto em microscopia confocal de varredura a laser em aumento de 40X.

A figura 3 mostra o aspecto microbiológico após a utilização das substâncias químicas auxiliares **A)** hipoclorito de sódio 2,5%, **B)** HEDP + NaOCl 2,5%, **C)** CLX 2% e **D)** SS.

De maneira geral, todas as soluções utilizadas promoveram redução microbiana em algum grau. O grupo HEDP + 2,5% NaOCl apresentou a menor proporção de células viáveis [1,11 (1,01 – 2,66)] %, seguido de NaOCl 2% [3,18 (2,36 – 3,78)] %, CLX 2% [6,23 (3,89 – 7,13)] % ($P > 0,05$). SS apresentou a maior porcentagem de células viáveis no interior dos túbulos dentinários [87,54 (83,37 – 91,89)] % ($P < 0,05$). O grupo controle positivo apresentou 100% de células viáveis.

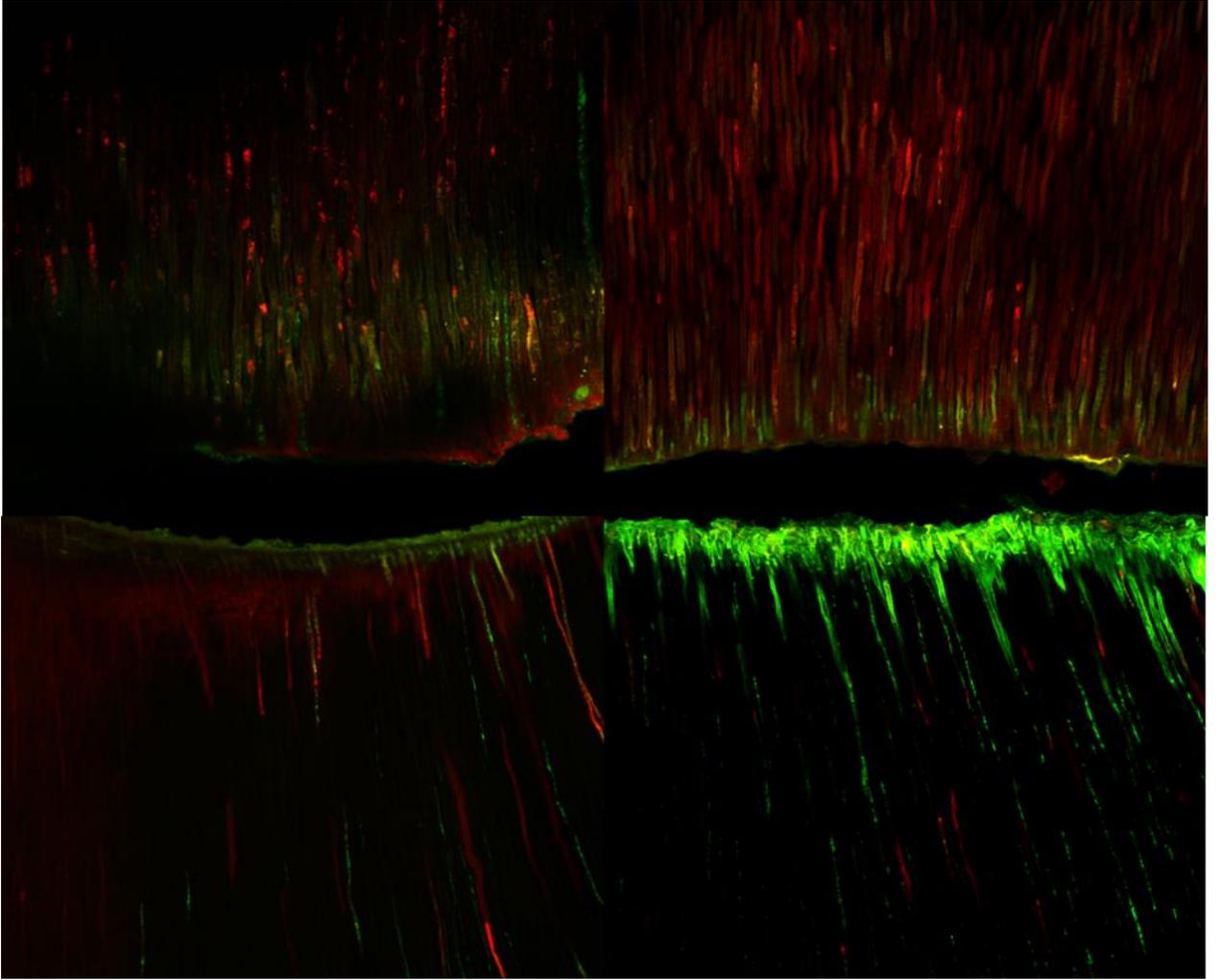


Figura 3 - Aspecto microbiológico após a utilização das substâncias químicas auxiliares **A)** NaOCl 2,5%, **B)** HEDP + NaOCl 2,5%, **C)** CLX 2% e **D)** SS evidenciando as bactérias com paredes celulares integras (verde) e comprometidas (não-viáveis / vermelho) em aumento de 40X.

6 DISCUSSÃO

Os principais objetivos deste estudo foram avaliar a efetividade de diferentes substâncias químicas auxiliares, NaOCl 2,5%, HEDP + NaOCl 2,5%, CLX 2% e SS na redução da carga microbiana em canais radiculares ovalados, e avaliar a capacidade de penetração no interior dos túbulos dentinários destas substâncias químicas auxiliares durante a realização do tratamento endodôntico.

Embora a utilização do hipoclorito de sódio em diferentes concentrações e da clorexidina sejam rotineiramente empregadas durante o tratamento endodôntico, poucos estudos associando o ácido etidrônico (HEDP) foram conduzidos para avaliar se há aumento na efetividade antimicrobiana destas substâncias.

A cultura microbiana é um método que consiste em fornecer ambiente propício, através de meios de cultura, para o crescimento de micro-organismos *in vitro*. A partir do isolamento de colônias, é possível identificar as principais espécies patogênicas endodônticas quando complementados com outros métodos, tais como o bioquímico (Gomes et al., 2015), clonagem (Nóbrega et al., 2016) e sequenciamento genético (Barbosa-Ribeiro et al., 2020). Além disso, a cultura microbiana permite monitorar a efetividade do tratamento endodôntico em suas diferentes fases (Gomes et al., 2015; Barbosa-Ribeiro et al., 2016, 2019, 2020; Arruda-Vasconcelos et al., 2020; Louzada et al., 2020). A coleta microbiológica foi realizada através de cones de papel absorvente estéreis, metodologia que tem sido amplamente utilizada neste contexto tanto em estudos *ex vivo* (Carvalho et al., 2019), quanto em estudos *in vivo* envolvendo animais (Gadê-Neto et al., 2019) e seres humanos (Gomes et al., 2015; Barbosa-Ribeiro et al., 2016, 2019, 2020; Arruda-Vasconcelos et al., 2020; Louzada et al., 2020).

Nossos resultados mostraram grande redução microbiana nos grupos onde estavam presentes substâncias com atividade antimicrobiana (ex: NaOCl e CLX). Desta forma, o grupo com maior redução na carga microbiana foi HEDP + NaOCl 2,5% (93,62%), NaOCl 2,5% (92,00%) e CLX 2% (87,25%), não havendo diferenças significativas entre os grupos, corroborando com estudos prévios, onde não mostram diferenças significativas entre a clorexidina e o hipoclorito de sódio quando utilizados como soluções irrigadoras (Gomes et al., 2013; Barbosa Ribeiro et al., 2016, 2019). Por outro lado, a ausência de uma substância com atividade antimicrobiana resultou em menor efetividade da solução irrigadora (ex. SS). Estudos mostram que após o tratamento endodôntico, áreas não tocadas podem favorecer a persistência de bactérias no interior dos canais radiculares (De Deus et al., 2010; Versiani et al., 2011). Portanto, por se tratar de canais ovalados e, conseqüentemente, de difícil acesso

a todas as paredes dos canais radiculares (Carvalho et al., 2019) foi observado remanescente microbiano.

A microscopia eletrônica de varredura a laser é uma valiosa ferramenta que permite investigar a presença de bactérias no interior de túbulos dentinários. Através desta metodologia, é possível observar bactérias com parede celular íntegra (coradas em verde) e com parede celular comprometida (coradas em vermelho). Desta forma, é possível apontar micro-organismos com potencial de causar insucesso do tratamento endodôntico por sobreviver aos procedimentos endodônticos.

O presente estudo observou que a associação entre o ácido etidrônico e o hipoclorito de sódio 2,5% (HEDP + NaOCl 2,5%) promoveu elevada redução antimicrobiana, sendo esta superior ao NaOCl 2,5% isoladamente, concordando com estudo prévio que utilizou a mesma metodologia (Giardino et al., 2019). A clorexidina em gel 2% também mostrou ótima capacidade de penetração no interior dos túbulos dentinários, promovendo redução microbiana. A propriedade tixotrópica da clorexidina permite que, quando submetida a estímulo, torne-se mais fluida, adentrando em regiões de difícil acesso, e consequentemente, promovendo ação antimicrobiana (Gomes et al., 2013). Além disso, a clorexidina é capaz de manter os debris originados da instrumentação mecânica em suspensão, facilitando a sua remoção dos canais radiculares (Gomes et al., 2013; Barbosa-Ribeiro et al., 2018; Arruda-Vasconcelos et al., 2019).

Este estudo confirmou a necessidade da utilização de soluções irrigadoras com propriedades antimicrobianas durante a realização do tratamento endodôntico, uma vez que a solução salina só apresentou redução microbiana no lúmen do canal radicular, exercido pela ação física da lima endodôntica e fluxo/refluxo da solução e o efeito de cavitação promovido pela aplicação do ultrassom. Entretanto, no interior dos túbulos dentinários, o efeito antimicrobiano não foi satisfatório. Além disso, o presente estudo mostrou que a associação do hipoclorito de sódio a um agente quelante pode aumentar a capacidade de redução de micro-organismos no interior de túbulos dentinários.

7 CONCLUSÃO

Todas as soluções irrigadoras foram capazes de reduzir/eliminar bactérias do lúmen dos canais radiculares através do método da cultura. A associação do ácido etidrônico (HEDP) ao hipoclorito de sódio permitiu maior redução bacteriana no interior dos túbulos dentinários. A microscopia confocal de varredura a laser mostrou ser um método eficaz na avaliação da presença de bactérias no interior dos túbulos dentinários.

REFERÊNCIAS*

Arruda-Vasconcelos R, Barbosa-Ribeiro M, Louzada LM, Mantovani GD, Gomes BP. Apically Extruded Debris Using Passive Ultrasonic Irrigation Associated with Different Root Canal Irrigants. *Braz Dent J.* 2019 Jul 22;30(4):363-7. doi: 10.1590/0103-6440201902674.

Arruda-Vasconcelos R, Louzada LM, Feres M, Tomson PL, Cooper PR, Gomes BPF. Investigation of microbial profile, levels of endotoxin and lipoteichoic acid in teeth with symptomatic irreversible pulpitis: a clinical study. *Int Endod J.* 2020 Sep 6. doi: 10.1111/iej.13402. Epub ahead of print.

Barbosa-Ribeiro M, De-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JF, Gomes BP. Quantification of Lipoteichoic Acid Contents and Cultivable Bacteria at the Different Phases of the Endodontic Retreatment. *J Endod.* 2016 Apr;42(4):552-6.

Barbosa-Ribeiro M, Arruda-Vasconcelos R, Fabretti FL, Silva EJNL, De-Deus G, Gomes BPF. Evaluation of Apically Extruded Debris Using Positive and Negative Pressure Irrigation Systems in Association with Different Irrigants. *Braz Dent J.* 2018 Mar-Apr;29(2):184-8. doi: 10.1590/0103-6440201801750.

Barbosa-Ribeiro M, Arruda-Vasconcelos R, de-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, de Almeida JFA, et al. Effectiveness of calcium hydroxide-based intracanal medication on infectious/inflammatory contents in teeth with post-treatment apical periodontitis. *Clin Oral Investig.* 2019 Jun;23(6):2759-66.

Barbosa-Ribeiro M, Arruda-Vasconcelos R, Louzada LM, Dos Santos DG, Andreote FD, Gomes BPF. Microbiological analysis of endodontically treated teeth with apical periodontitis before and after endodontic retreatment. *Clin Oral Investig.* 2020 Aug 28. doi: 10.1007/s00784-020-03510-2.

Bukhari S, Kim D, Liu Y, Karabucak B, Koo H. Novel Endodontic Disinfection Approach Using Catalytic Nanoparticles. *J Endod.* 2018 May;44(5):806-812. doi: 10.1016/j.joen.2017.12.003.

Bürklein S, Benten S, Schäfer E. Quantitative evaluation of apically extruded debris with different single-file systems: Reciproc, F360 and OneShape versus Mtwo. *Int Endod J.* 2014 May;47(5):405-9. doi: 10.1111/iej.12161.

* De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

Carvalho MC, Zuolo ML, Arruda-Vasconcelos R, Marinho ACS, Louzada LM, Francisco PA, et al. Effectiveness of XP-Endo Finisher in the reduction of bacterial load in oval-shaped root canals. *Braz Oral Res.* 2019;33e21. doi: 10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0021.

De-Deus G, Barino B, Zamolyi RQ, Souza E, Fonseca A Jr, Fidel S, et al. Suboptimal debridement quality produced by the single-file F2 ProTaper technique in oval-shaped canals. *J Endod.* 2010 Nov;36(11):1897-900.

De-Deus G, Neves A, Silva EJ, Mendonça TA, Lourenço C, Calixto C, et al. Apically extruded dentin debris by reciprocating single-file and multi-file rotary system. *Clin Oral Investig.* 2015 Mar;19(2):357-61. doi: 10.1007/s00784-014-1267-5.

Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. *Braz Dent J.* 2007;18(4):294-8. doi: 10.1590/s0103-64402007000400004.

Gadê-Neto CR, Rodrigues RR, Louzada LM, Arruda-Vasconcelos R, Teixeira FB, Viana Casarin RC, et al. Microbiota of periodontal pockets and root canals in induced experimental periodontal disease in dogs. *J Investig Clin Dent.* 2019 Nov;10(4):e12439. doi: 10.1111/jicd.12439. Epub 2019 Jul 17.

Giardino L, Del Fabbro M, Morra M, Pereira T, Bombarda de Andrade F, Savadori P, Generali L. Dual Rinse® HEDP increases the surface tension of NaOCl but may increase its dentin disinfection efficacy. *Odontology.* 2019 Oct;107(4):521-529. doi: 10.1007/s10266-019-00436-4.

Gomes BP, Drucker DB, Lilley JD. Associations of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int Endod J.* 1994 Nov;27(6):291- 8.

Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB. Associations of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. *Int Endod J.* 1996 Mar;29(2):69-75.

Gomes BP, Sato E, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Evaluation of time required for recontamination of coronally sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorhexidine. *Int Endod J.* 2003 Sep;36(9):604-9.

Gomes BP, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Ferraz CC. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J.* 2013;24(2):89-102. doi: 10.1590/0103-6440201302188.

Gomes BP, Berber VB, Kokaras AS, Chen T, Paster BJ. Microbiomes of Endodontic-Periodontal Lesions before and after Chemomechanical Preparation. *J Endod.* 2015 Dec;41(12):1975-84. doi: 10.1016/j.joen.2015.08.022.

Gomes BPFA, Herrera DR. Etiologic role of root canal infection in apical periodontitis and its relationship with clinical symptomatology. *Braz Oral Res.* 2018 Oct 18;32(suppl 1):e69. doi: 10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0069.

Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effect of surgical exposure of dental pulp in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg, Oral Med Oral Pathol.* 1965;20:340–9.

Lottanti S, Gautschi H, Sener B, Zehnder M. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. *Int Endod J.* 2009 Apr;42(4):335-43. doi: 10.1111/j.1365-2591.2008.01514.x.

Louzada LM, Arruda-Vasconcelos R, Duque TM, Casarin RCV, Feres M, Gomes BPFA. Clinical Investigation of Microbial Profile and Levels of Endotoxins and Lipoteichoic Acid at Different Phases of the Endodontic Treatment in Teeth with Vital Pulp and Associated Periodontal Disease. *J Endod.* 2020 Jun;46(6):736-47.

Magura ME, Kafrawy AH, Brown CE Jr, Newton CW. Human saliva coronal microleakage in obturated root canals: an in vitro study. *J Endod.* 1991 Jul;17(7):324-31. doi: 10.1016/S0099-2399(06)81700-0.

Marinho AC, Martinho FC, Gonçalves LM, Rabang HR, Gomes BP. Does the Reciproc file remove root canal bacteria and endotoxins as effectively as multife rotary systems? *Int Endod J.* 2015 Jun;48(6):542-8. doi: 10.1111/iej.12346. Epub 2014 Sep 11. PMID: 25070009.

Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res.* 1981 Dec;89(6):475-84.

Nóbrega LM, Montagner F, Ribeiro AC, Mayer MA, Gomes BP. Bacterial diversity of symptomatic primary endodontic infection by clonal analysis. *Braz Oral Res.* 2016 Oct 10;30(1):e103. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0103.

Paulson L, Ballal NV, Bhagat A. Effect of Root Dentin Conditioning on the Pushout Bond Strength of Biodentine. *J Endod.* 2018 Jul;44(7):1186-1190. doi: 10.1016/j.joen.2018.04.009.

Silva EJNL, Belladonna FG, Zuolo AS, Rodrigues E, Ehrhardt IC, Souza EM, De-Deus G. Effectiveness of XP-endo Finisher and XP-endo Finisher R in removing root filling remnants: a micro-CT study. *Int Endod J*. 2018 Jan;51(1):86-91. doi: 10.1111/iej.12788.

Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps [tese]. Umea: Umeå University; 1976.

Versiani MA, Pécora JD, de Sousa-Neto MD. Flat-oval root canal preparation with self-adjusting file instrument: a micro-computed tomography study. *J Endod*. 2011 Jul;37(7):1002-7.

Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod*. 2006 May;32(5):389-98. doi: 10.1016/j.joen.2005.09.014.

Zollinger A, Mohn D, Zeltner M, Zehnder M. Short-term storage stability of NaOCl solutions when combined with Dual Rinse HEDP. *Int Endod J*. 2018 Jun;51(6):691-6. doi: 10.1111/iej.12875.

ANEXOS

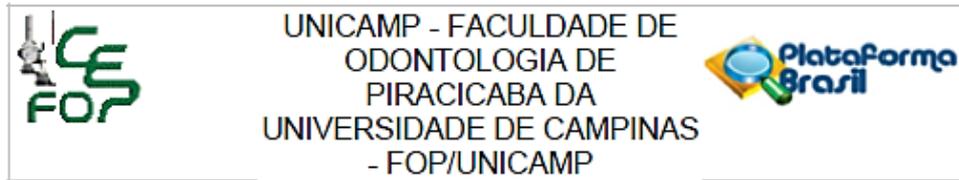
Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio

AValiação DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES SOLUÇÕES IRRIGADORAS SOBRE BIOFILME MULTIESPÉCIE COM POTENCIAL UTILIZAÇÃO NA TERAPIA ENDODÔNTICA: ESTUDO *EX VIVO*.

RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE

6%	5%	5%	0%
ÍNDICE DE SEMELHANÇA	FONTES DA INTERNET	PUBLICAÇÕES	DOCUMENTOS DOS ALUNOS
FONTES PRIMÁRIAS			
1	pesquisa.bvsalud.org Fonte da Internet		2%
2	repositorio.unesp.br Fonte da Internet		1%
3	Carlos Goes Nogales. "Parâmetros da ação antimicrobiana e da citotoxicidade do ozônio para aplicação na Endodontia", Universidade de Sao Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP, 2011 Publicação		1%
4	doczz.net Fonte da Internet		1%
5	Fernanda Souza Liévana. "Efeito do curativo de demora com EGCG, derivada do chá verde, na lesão periapical em cães", Universidade de Sao Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP, 2019 Publicação		1%
6	Hermano Camelo Paiva. "Avaliação		

Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da atividade antimicrobiana de soluções irrigadoras com potencial utilização na terapia endodôntica

Pesquisador: Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 34237020.7.0000.5418

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO
CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E
TECNOLOGICO-CNPQ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.204.789

Apresentação do Projeto:

Transcrição editada do conteúdo do registro do protocolo e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil
A EQUIPE DE PESQUISA citada na capa do projeto de pesquisa inclui BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES (Cirurgiã-Dentista, Especialista, Docente Titular do Departamento de Odontologia Restauradora, Pesquisadora responsável, Orientadora), GIOVANNA DORNELAS MANTOVANI (Graduanda no curso de Odontologia da FOP/Unicamp), LIDIANE MENDES LOUZADA (Cirurgiã-Dentista, Doutoranda no PPG em Clínica Odontológica, Área de Endodontiada, da FOP-UNICAMP) e RODRIGO ARRUDA VASCONCELOS (Cirurgião-Dentista, Doutorando no PPG em Clínica Odontológica, Área de Endodontia da FOP-UNICAMP), o que é confirmado na declaração dos pesquisadores e na PB.

Delineamento da pesquisa: Trata-se de estudo laboratorial, in vitro, comparativo, que envolverá 45 dentes incisivos inferiores humanos obtidos em doação de um dentista que os extraiu em seu consultório por motivos clínicos e independentes da pesquisa e um doador de saliva adulto, pesquisador neste protocolo. O estudo tem como objetivo avaliar a efetividade de diferentes substâncias químicas auxiliares tais como: ácido etidróico (HEDP), hipoclorito de sódio (NaOCl),

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PIRACICABA, 11 de Agosto de 2020

Assinado por:
jacks jorge junior
(Coordenador(a))

Endereço: Av.Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião CEP: 13.414-903
UF: SP Município: PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 Fax: (19)2106-5349 E-mail: cep@fop.unicamp.br

Anexo 3 – Iniciação Científica



Universidade Estadual de Campinas
 Pró-Reitoria de Pesquisa
Programas de Iniciação Científica e Tecnológica
 www.prp.unicamp.br | Tel. 55 19 3521-4891

PARECER SOBRE RELATÓRIO FINAL DE ATIVIDADES

Bolsista: GIOVANNA DORNELAS MANTOVANI – RA 173212

Orientador(a): Prof.(a) Dr.(a) BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES

Projeto: *"Avaliação da atividade antimicrobiana de diferentes soluções irrigadoras sobre biofilme multiespécies com potencial utilização na terapia endodôntica: Estudo ex vivo"*

Bolsa: SAE/UNICAMP

Processo: 01-P-175/2019

Vigência: 01/08/2019 a 31/08/2020

PARECER

O relatório sobre as atividades de Iniciação Científica apresentado está muito bem redigido e bem organizado. Os resultados são apresentados de forma adequada do ponto de vista acadêmico e discutidos de maneira clara.

A aluna demonstrou ótimo desempenho acadêmico durante a realização de sua IC e também realizou diversas atividades extracurriculares.

Recomenda-se aprovação do relatório apresentado sem nenhuma ressalva.

Conclusão do Parecer:

🟢 Aprovado

Pró-Reitoria de Pesquisa, 25 de novembro de 2020.


 Mirian Cristina Marcançola
 PRP / PIBIC - Unicamp
 Matr. 299062