

Trabalho de Conclusão de Curso

Efeito antibiofilme de soluções de hipoclorito de sódio e de nanopartículas de prata

Gabriela Vieira dos Santos



**Universidade Federal de Santa Catarina
Curso de Graduação em Odontologia**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

Gabriela Vieira dos Santos

**EFEITO ANTIBIOFILME DE SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO
DE SÓDIO E DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, como
requisito para a conclusão do Curso de
Graduação em Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Wilson Tadeu
Felippe

Co-orientadora: Ms. Josiane de
Almeida

Florianópolis

2014

Gabriela Vieira dos Santos

**EFEITO ANTIBIOFILME DE SOLUÇÕES
DE HIPOCLORITO DE SÓDIO
E DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

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

Florianópolis, 23 de Julho de 2014.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Wilson Tadeu Felipe
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Mara Cristina Santos Felipe
Membro
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Maria Helena Pozzobon
Membro
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos meus
amados pais, Gilmar e Rita.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por estar sempre comigo, por ter me iluminado nos piores e melhores momentos e por ter me dado tantas boas oportunidades na vida.

Aos meus pais, **Gilmar e Rita**, por todo o amor, paciência, respeito, carinho e dedicação que tiveram por mim ao longo do meu curso e de toda a vida. A vocês eu dedico todas as minhas vitórias e a minha gratidão, por terem dado tudo o que puderam de si para me proporcionar sempre o melhor. Obrigada do fundo do meu coração pela vida que eu tenho hoje, vocês foram e são perfeitos.

Ao meu namorado que tanto amo, **Victor**, o maior presente que a odontologia me deu, por toda a compreensão nos finais de semana dedicados ao TCC, por me abraçar nos meus dias de desespero dizendo que eu iria conseguir e por tornar dias comuns nos melhores momentos, simplesmente por estar ao meu lado. Com certeza as coisas ficaram muito mais fáceis por tê-lo comigo, muito obrigada por tudo.

Aos meus avós, em especial à minha avó **Catarina** (*in memoriam*), que esteve por perto durante quase todo o curso. Todas as minhas conquistas eu também dedico à ela, que com certeza está no céu pedindo para Deus me abençoar, como já fazia aqui embaixo. A saudade é grande!

Às minhas grandes amigas **Maria Eugênia, Saruê e Daniela** que nunca deixaram de estar ao meu lado e compreenderam quando eu não pude estar presente. Vocês são para a vida inteira.

À minha co-orientadora **Josiane de Almeida**, por simplesmente tudo: pela pessoa extremamente dedicada que é com a profissão e com os seus orientados, pela paciência ao ensinar, pela disponibilidade em todos os horários possíveis que eu precisei, pela ajuda em cada vírgula que eu escrevi neste trabalho, pela tranquilidade que me passou nos dias em que parecia tudo dar errado, pela confiança que depositou em mim e me fez querer mostrar o meu melhor, pelos elogios e puxões de orelha que eu mereci e pela vontade de trabalhar e ser cada dia uma pessoa melhor. Obrigada por tudo, não teria dado tão certo sem a tua presença.

Ao meu orientador **Wilson Tadeu Felipe** pelo excelente professor que é, pela confiança que depositou em mim desde quando iniciei a pesquisa, pela paciência e pela disponibilidade durante a orientação deste trabalho. Gostaria de parabenizá-lo pela organização impecável no ambiente de trabalho, pelo comprometimento com a disciplina de Endodontia e pela pessoa maravilhosa que demonstrou ser para mim e para a minha turma. Muito obrigada!

À professora **Mara Cristina Santos Felipe** por ter me recebido tão bem em cada tarde de trabalho no laboratório de Endodontia. Obrigada pelo carinho e por ser tão compreensiva quando eu e meus colegas mais precisamos.

À professora **Maria Helena Pozzobon** por todos os semestres em que me ajudou na clínica, pelo carinho de sempre e pela simpatia com todos ao seu redor.

À minha colega de pesquisa, **Morgana Thays Orsi** por todas as manhãs, tardes e noites no laboratório, por compreender quando eu não pude estar presente, por toda a ajuda em cada etapa da pesquisa e pela companhia.

À querida **Bruna Casagrande Cechella**, que também participou desta pesquisa, por toda a ajuda nos dias de trabalho e pela paciência em ensinar cada passo. Muito obrigada.

“Faça o melhor que puder. Seja o melhor que puder. O resultado virá na mesma proporção do seu esforço.”

(Mahatma Gandhi)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar e comparar a efetividade das soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl) e de nanopartículas de prata (Np Ag) contra um biofilme de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) estabelecido no canal radicular. Para a execução do experimento foram obtidos 42 segmentos radiculares de 12 mm de comprimento a partir de dentes humanos unirradiculados hígidos. Os canais foram modelados pela técnica escalonada sob irrigação constante com NaOCl 1%. Após o preparo, uma suspensão de *E. faecalis* foi inoculada e renovada diariamente por 7 dias. Uma análise realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura em dois segmentos radiculares confirmou a presença do biofilme. Os 40 segmentos radiculares remanescentes foram divididos aleatoriamente em 4 grupos (n=10), de acordo com a solução irrigadora empregada: G1) solução salina 0,85% (controle), G2) NaOCl 1%, G3) NaOCl 5%, G4) solução de Np Ag 1%. Concluída a irrigação, foram coletadas as bactérias remanescentes do interior dos canais com cones estéreis de papel absorvente. A partir de diluições da suspensão bacteriana, alíquotas de 100 µL foram plaqueadas em ágar Mueller-Hinton e as placas incubadas a 37°C por 24 h. O conjunto de dados representados pelos valores médios de unidades formadoras de colônias (UFC) para cada grupo foi analisado estatisticamente pelos testes Kruskal-Wallis e Tukey ($p < 0,05$). A efetividade das soluções de NaOCl 1% e 5% e Np Ag 1% contra o biofilme de *E. faecalis* foi semelhante e significativamente superior à solução salina 0,85%.

Palavras-chave: desinfecção, *Enterococcus faecalis*, biofilme

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate and compare the effectiveness of sodium hypochlorite (NaOCl) solutions and silver nanoparticles (Np Ag) against *E. faecalis* biofilm (ATCC 29212) established at the root canal. To perform the experiment, 42 root segments with 12 mm were obtained from single root human teeth. The root canals were prepared by step back technique under irrigation with 1% NaOCl. After, the root canals were inoculated with a *E. faecalis* suspension, which was renewed daily for 7 days. Analysis in two root segments by scanning electron microscopy confirmed biofilm presence. The other 40 segments were divided into 4 groups, according to the solution used: G1) 0.85% saline solution (control group), G2) 1% NaOCl, G3) 5% NaOCl, G4) 1% Np Ag solution. After completing the irrigation protocol, collection of remaining bacteria was performed using absorbent paper cones. Aliquots of 100 μ L were plated in Muller-Hinton agar from dilutions of bacterial suspensions, and plates were incubated at 37° C for 24 hours. The data were represented by the mean values of colony forming units (CFU) of each group and it was statistically analyzed by Kruskal-Wallis and Tukey tests ($p < 0.05$). The solutions of 1% and 5% NaOCl and 1% Np Ag showed similar antibiofilm capacity and significantly higher than 0.85% saline.

Keywords: disinfection, *Enterococcus faecalis*, biofilm.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Fotomicrografia obtida em MEV evidenciando a presença do biofilme sobre a superfície dentinária do canal radicular após o período de incubação com *E. faecalis* (3.000x) 43
- Figura 2 – Fotomicrografia obtida em MEV mostrando a presença de um denso biofilme na superfície do canal radicular após irrigação com solução salina 0,85%. (4.000x) 46
- Figura 3 – Fotomicrografia obtida em MEV mostrando a superfície dentinária após irrigação com NaOCl 1% de uma amostra do G2: presença de biofilme parcialmente estruturado (3.000x) 46
- Figura 4 – Fotomicrografia obtida em MEV mostrando a superfície dentinária após irrigação com NaOCl 5% de uma amostra do G3: superfície livre de bactérias (2.000x) 47
- Figura 5 – Fotomicrografia em MEV mostrando a superfície dentinária após irrigação com NP Ag 1% de uma amostra do G4: presença de pequenos aglomerados bacterianos (2.000x) 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores estimados das médias, medianas e desvios padrão observados após o uso das diferentes soluções.....	44
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHI – brain heart infusion
C. albicans – *Candida albicans*
CFU – colony forming units
CHX – clorexidine
CLSM – microscopia eletrônica confocal de varredura
E. coli – *Escherichia coli*
E. faecalis – *Enterococcus faecalis*
EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético
EPS – matriz extracelular polimérica
et al. – e colaboradores
G1 – grupo 1
G2 – grupo 2
G3 – grupo 3
G4 – grupo 4
G5 – grupo 5
h – horas
kW – quilowatt
L. paracasei – *Lactobacillus paracasei*
M – molar
MEV – microscópio eletrônica de varredura
min – minuto
mL – mililitros
mm – milímetros
mmol/L – milimol por litro
n – número de amostras
NaOCl – hipoclorito de sódio
nm – nanômetros
Np Ag – nanopartícula de prata
PBS – tampão fosfato salino
PDT – terapia fotodinâmica
ppm – parte por milhão
SAEW – água eletrolítica ácida
S. gordonii – *Streptococcus gordonii*
TSB – Caldo Triptona de Soja
UFC – unidade formadora de colônia

LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

μL - microlitro

$^{\circ}\text{C}$ - graus Celsius

< - menor

> - maior

- número

\AA - angström

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	25
2. OBJETIVOS.....	29
2.1 Objetivo geral.....	29
2.2 Objetivos específicos.....	29
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	31
3.1 Hipoclorito de sódio.....	31
3.2 Nanopartículas de Prata.....	35
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.1 Preparo dos espécimes.....	39
4.2 Formação do biofilme.....	39
4.3 Confirmação da formação do biofilme.....	40
4.4 Grupos experimentais e soluções irrigadoras.....	40
4.5 Contagem de UFC.....	40
4.6 Avaliação da presença do biofilme.....	41
4.7 Análise estatística.....	41
5. RESULTADOS.....	43
6. DISCUSSÃO.....	49
7. CONCLUSÃO.....	51
8. REFERÊNCIAS.....	53
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética.....	63
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido....	67

1. INTRODUÇÃO

Apesar de a maioria dos insucessos ocorridos nos tratamentos endodônticos ser causada por problemas técnicos, podemos dizer que grande parte dos insucessos envolve a infecção continuada do sistema de canais radiculares, principalmente no terço apical (PORTENIER; WATIMO; HAAPASALO, 2003; De PAZ, 2007; ALVES et al., 2013).

Nos insucessos associados à canais aparentemente bem tratados, a flora microbiana é caracterizada como monoinfecção, predominantemente gram-positiva com proporções iguais de micro-organismos facultativos e anaeróbios obrigatórios ou estritos (PORTENIER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003). Dentre os facultativos, o mais destacado é o *Enterococcus faecalis* (MOLLER 1966; MOLANDER et al., 1998; SUNDQVIST et al., 1998; PECIULIENE et al., 2000; HANCOCK et al., 2001; PINHEIRO et al., 2003; SIQUEIRA & RÔÇAS 2004; FOUAD et al., 2005; ARIAS-MOLIZ et al., 2010.), cujo o crescimento não é favorecido pelas condições encontradas em canais com infecção primária. Quando presentes nesta situação, normalmente aparecem em pequena proporção e são eliminados no tratamento inicial, pela ação da instrumentação endodôntica e de renovada e abundante solução de hipoclorito de sódio (ABDULLAH et al., 2005; STUART et al., 2006).

O *E. faecalis* parece ser altamente resistente aos medicamentos empregados durante a terapia endodôntica e é um dos poucos micro-organismos que, *in vitro*, resiste ao efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio (PORTENIER et al, 2003). Ele também tem se mostrado capaz de sobreviver em canais como um organismo isolado, sem a necessidade de suporte de outras bactérias (BYSTRÖM et al., 1985).

Como tem sido isolado de forma rotineira em canais com necessidade de retratamento (22% à 77%), o *E. faecalis* transformou-se rapidamente no agente etiológico mais importante e mais relacionado ao insucesso endodôntico (MOLLER 1966; MOLANDER et al., 1998; SUNDQVIST et al., 1998; PECIULIENE et al 2000; HANCOCK et al., 2001; PINHEIRO et al 2003; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2004; FOUAD et al., 2005).

A dificuldade de eliminação desse micro-organismo também está relacionada à complexa anatomia do sistema de canais radiculares, a qual permite que determinadas regiões permaneçam inacessíveis à instrumentos endodônticos (NAIR, 2006; PABLO et al., 2010), além da sua habilidade de penetrar nos túbulos dentinários, se aderir às paredes de dentina (SEDGLEY; LENNAN; APPELBE, 2005,

CHIVATXARANUKUL; DASHPER, MESSER, 2008) e se organizar na forma de biofilme (LOVE 2001; RADCLIFFE et al., 2004).

O biofilme bacteriano caracteriza-se como uma comunidade microbiana embebida em uma estrutura extracelular polimérica, produzida pelas próprias bactérias. Essa matriz, formada por exopolissacarídeos, fornece estabilidade mecânica ao biofilme e impede o contato direto de agentes antissépticos com os micro-organismos, diminuindo, portanto, sua efetividade (ARIAS- MOLIZ et al., 2010).

Na tentativa de elevar os níveis de desinfecção do sistema de canais radiculares, diversas soluções irrigadoras têm sido indicadas para o uso durante o tratamento endodôntico. Dentre elas, a mais utilizada é a solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) em concentrações que variam de 1 a 6% (DUNAVANT et al., 2006, WILLIAMSON, 2009; BHUVA et al., 2010; DE PAZ; BERGENHOLTZ; SVENSÄTER, 2010; OZDEMIR et al., 2010; PRABHAKAR et al., 2010; BACA et al., 2011; DAGNA et al., 2011; STOJICIC et al., 2011; CASE et al., 2012; RAHIMI et al., 2012; MEIRE et al., 2012)

O NaOCl, como solução irrigadora, é eficaz na remoção mecânica de detritos do canal radicular (POGGIO et al., 2009; POGGIO et al., 2010) e apresenta ação antimicrobiana de amplo espectro (DE PAZ; BERGENHOLTZ; SVENSÄTER, 2010; OZDEMIR et al., 2010; PRABHAKAR et al., 2010; BACA et al., 2011; DAGNA et al., 2011; STOJICIC et al., 2011; CASE et al., 2012; MEIRE et al., 2012; RAHIMI et al., 2012), eliminando efetivamente os micro-organismos do canal radicular (SIQUEIRA et al., 1998; SUNDQVIST et al., 1998; D'ARCANGELO et al., 1999). Além disso, tem excelente poder de dissolução da matéria orgânica (POGGIO et al., 2009; POGGIO et al., 2010).

Quando comparado à outras soluções irrigadoras, como por exemplo clorexidine (CHX) 2% e 2,5% (DUNAVANT, 2006; DE PAZ; BERGENHOLTZ; SVENSÄTER, 2010), BioPure MTAD (DUNAVANT et al., 2006) e ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA) (50mmol/L), o NaOCl, em suas variadas concentrações, foi mais efetivo na eliminação do biofilme de *E. faecalis* (DE PAZ; BERGENHOLTZ; SVENSÄTER, 2010; CASE et al., 2012).

No entanto, em alguns casos, mesmo após a realização do tratamento convencional sob irrigação com NaOCl e até mesmo com a aplicação de hidróxido de cálcio como medicação intracanal, micro-organismos e biofilmes viáveis ainda podem ser detectados no sistema de canais radiculares (NAIR et al., 2005; RICUCCI; SIQUEIRA, 2010).

Recentemente, tem sido demonstrado que a incorporação de nanopartículas de prata (NP Ag) à estrutura de diferentes materiais odontológicos proporciona ou melhora sua atividade antimicrobiana e antibiofilme (SECINTI et al., 2011), (ZHANG et al., 2012; MELO et al., 2013) e (CHENG et al., 2012). Quando empregada na forma de medicação intracanal (CARREIRA et al., 2009; WU et al., 2014) e de solução irrigadora (CARREIRA et al., 2009; WU et al., 2014), as NP Ag tem se mostrado um potente agente antimicrobiano (RAI *et al.*, 2012).

O pequeno tamanho das NP Ag (< 100 nm) proporciona uma maior superfície de contato com os micro-organismos (ONODA, 2011). Já foi demonstrado que as NP Ag possuem grande eficácia contra um amplo espectro de bactérias gram-positivas e gram-negativas, incluindo cepas de bactérias antibiótico-resistentes (PERCIVAL *et al.*, 2007).

Um dos mecanismos sugeridos para explicar a ação das NP Ag sobre a bactéria é a sua ligação à membrana celular, que aumenta sua permeabilidade, promove mudanças estruturais, e por conseguinte a lise celular (SONDI E SALOPEK- SONDI, 2004).

A efetividade das NP Ag atuando como solução irrigadora do canal ainda não foi estabelecida. Diante do exposto, seguem os objetivos do presente trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar *ex vivo*, a efetividade das soluções de hipoclorito de sódio e de nanopartículas de prata contra o biofilme de *E. faecalis* estabelecido na superfície do canal radicular.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar e comparar, por meio de contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), a efetividade das soluções de hipoclorito de sódio 1% e 5% e de nanopartículas de prata 1% comparadas à solução salina 0,85% contra o biofilme de *E. faecalis* estabelecido na superfície do canal radicular.

3. REVISÃO DE LITERATURA

A presente revisão apresenta os trabalhos mais relevantes que investigaram a efetividade das soluções de NaOCl e de NP Ag contra o biofilme microbiano.

3.1. Hipoclorito de sódio

O hipoclorito de sódio tem ação antimicrobiana contra um amplo espectro de micro-organismos, dentre eles: bactérias, fungos e vírus (ZEHNDER, 2006). A sua capacidade oxidativa, hidrolítica e de remover osmoticamente os fluidos dos tecidos o faz um potente solvente proteolítico (PASHLEY et al., 1985). Acredita-se que o mecanismo pelo qual o NaOCl exerce seu efeito bactericida esteja associado à ação oxidativa do ácido hipocloroso não dissociado sobre os grupos sulfidríla das enzimas bacterianas (SEET et al., 2012). A inibição dessas enzimas resulta em interferência nas funções metabólicas e, finalmente, na morte bacteriana (SEET et al., 2012).

Em 2009, Williamson, Cardon e avaliaram, por meio da técnica de espalhamento em superfície e contagem de UFC, a suscetibilidade do biofilme de *E. faecalis* formado no canal radicular à diferentes soluções irrigadoras. Lâminas de microscópio contaminadas com cultura de *E. faecalis* foram imersas em tubos contendo 30 mL de caldo BHI, que foram incubados à 37°C por 48h para permitir a formação do biofilme. Depois, as lâminas foram divididas em 5 grupos de acordo com a solução em que foram imersas: G1) CHX 2%; G2) CHX-Plus 2%; G3) NaOCl 6%; G4) Chlor-XTRA e G5) água destilada estéril (controle). As lâminas foram expostas às soluções por diferentes períodos de tempo (1, 3 e 5 minutos) e, em seguida, neutralizadas com Tween 80 0,5%. As lâminas foram imersas em placas de Petri contendo 5 mL de caldo BHI e os biofilmes foram raspados da superfície utilizando-se um laço de arame. O caldo BHI foi recolhido e repetidamente misturado no vortex para formar uma suspensão homogênea. As suspensões foram diluídas em caldo BHI estéril, para então a solução original e suas diluições serem plaqueadas em ágar BHI. Os resultados mostraram que nos períodos de 1 e 3 minutos o NaOCl 6% e Chlor-XTRATM foram significativamente mais eficazes do que CHX 2% e CHX-PlusTM na eliminação do biofilme.

No estudo de De Paz, Bergenholtz e Svensäter (2010), o efeito antimicrobiano de diferentes soluções irrigadoras foi testado, *ex vivo*, contra biofilmes de *E. faecalis*, *Lactobacillus paracasei* e *Streptococcus gordonii* presentes no canal radicular de dentes humanos. Os biofilmes formados em 24h foram expostos, por 5 minutos, às soluções de CHX 2,5%, EDTA (50mmol/L) e NaOCl 1%. Os biofilmes foram caracterizados através de marcadores fluorescentes direcionados à integridade da membrana celular e à atividade metabólica. O NaOCl 1% afetou a integridade das membranas celulares de todos os micro-organismos e removeu a maioria dos biofilmes, apresentando uma atividade antimicrobiana superior a das outras soluções testadas.

Com o objetivo de avaliar os efeitos do EDTA e do NaOCl sobre o biofilme de *E. faecalis*, Ozdemir et al. (2010) realizaram um estudo com dentes humanos de pacientes jovens (<30 anos) e idosos (>60 anos). Segmentos radiculares de 4 mm foram alargados com brocas Gates-Glidden #2 e tratados, por 10 minutos, com as diferentes soluções: EDTA 17% + NaOCl 2,5%, EDTA 17% puro, NaOCl 2,5% puro e tampão fosfato salino (PBS). Em seguida, as amostras foram incubadas por 24 h com uma cultura de *E. faecalis*. Depois, o canal radicular de todos os segmentos radiculares foi alargado com broca Gates-Glidden #3. As raspas de dentina foram coletadas e armazenadas em tubos com PBS. Os tubos foram submetidos à agitação ultrassônica para deslocamento das bactérias e a suspensão bacteriana obtida foi diluída e plaqueada. Após a incubação por 24h, foi realizada a contagem de UFC. Os autores concluíram que o canal radicular de dentes de pessoas idosas são mais suscetíveis à infecção e que a combinação de EDTA 17% + NaOCl 2,5% reduziu significativamente o biofilme intracanal, mas não conseguiu eliminá-lo completamente.

Stojicic et al. (2011) avaliaram a eficácia de uma nova solução irrigadora – composto de bisbiguanida, ácido poliaminocarboxílico e surfactante (QMIX) – contra o biofilme de *E. faecalis*. Discos de dentina e de hidroxiapatita serviram como substrato por 3 semanas para a formação do biofilme. Em seguida, os discos foram imersos em cada uma das soluções: QMIX, CHX 2%, Bio Pure MTAD, NaOCl 1% e 2%, e solução salina (controle) por 1 e 3 minutos. As amostras com o biofilme remanescente aderido foram submetidas à coloração LIVE/DEAD para identificação de bactérias viáveis, por meio de microscopia eletrônica confocal de varredura (CLSM). Os autores concluíram que as soluções de NaOCl e QMIX foram superiores à CHX e MTAD na eliminação do biofilme de *E. faecalis*.

Seet et al. (2012) compararam, *ex vivo*, a efetividade do NaOCl 4% na irrigação convencional com seringa, ativado sonicamente ou ativado à laser quanto à capacidade de remoção do biofilme de *E. faecalis* de 4 semanas, formado no canal radicular de dentes humanos. As amostras foram avaliadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Os resultados mostraram que o NaOCl 4% ativado sonicamente e utilizado na irrigação convencional com seringa reduziu o número de bactérias no interior do canal radicular. No entanto, os dois métodos não foram eficazes em eliminar o *E. faecalis* dos túbulos dentinários, diferentemente da ativação a laser, que proporcionou melhores resultados.

Wang, Shen e Haapasalo (2012) avaliaram, *ex vivo*, a efetividade do NaOCl 2% e 6%, da CHX 2% e do QMiX em biofilmes novos e maduros de *E. faecalis*, presentes no canal radicular. As bactérias foram introduzidas nos túbulos dentinários por meio de centrifugação e as amostras incubadas por 1 dia e 3 semanas. Posteriormente aos períodos de incubação, as amostras de dentina foram expostas às soluções irrigadoras por 1 e 3 minutos e, em seguida, coradas com corante fluorescente indicador de viabilidade celular LIVE/DEAD para posterior análise por meio de CLSM. Os resultados mostraram maior efetividade do NaOCl 6% e do QMiX sobre o biofilme novo. Entretanto, sobre o biofilme maduro, o NaOCl 6% foi o mais efetivo. O NaOCl 2% mostrou atividade de desinfecção similar a CHX 2%.

Chen et al. (2013) observaram, *ex vivo*, o efeito antimicrobiano da água eletrolítica ácida (SAEW), do NaOCl 5,25% e solução salina 0,9%, quando utilizados na forma de solução irrigadora contra o biofilme de *E. faecalis*, por meio do teste de viabilidade celular e análise em CLSM. Os canais radiculares de 35 dentes humanos foram contaminados com *E. faecalis* e incubados por 4 semanas. Em seguida, foram divididos em 7 grupos (n=5) de acordo com a solução irrigadora empregada: SAEW, NaOCl 5,25%, solução salina 0,9%, SAEW seguida de agitação ultrassônica e NaOCl 5,25% seguido de agitação ultrassônica. Os canais foram instrumentados com limas rotatórias ProTaper até o instrumento F3. Entre cada instrumento, os canais foram irrigados por 1 minuto com 1 mL da solução pertencente a cada grupo. Após a irrigação, amostras foram coletadas com cones de papel estereis. A partir das suspensões bacterianas, alíquotas (0,1 mL) foram plaqueadas em ágar BHI e as placas incubadas à 37°C por 48 h. Em seguida, foi realizada a contagem de UFC. Foi observada uma redução da vitalidade das células do biofilme e um aumento na proporção de

bactérias mortas de acordo com o aumento do tempo de tratamento com SAEW. Não houve diferença significativa entre SAEW e NaOCl 5,25% quanto ao tempo de tratamento e na suscetibilidade do *E. faecalis* às soluções. O SAEW e o NaOCl foram mais efetivos contra o biofilme comparados à solução salina e a eficácia antimicrobiana foi maior nas soluções ativadas pela vibração ultrassônica.

Zand et al. (2014) investigaram a efetividade antimicrobiana do NaOCl 1%, NaOCl 2,5% e da terapia fotodinâmica (PDT) contra biofilmes de *E. faecalis* em diferentes estágios de desenvolvimento (4, 6 e 8 semanas). Segmentos radiculares de aproximadamente 12 mm foram obtidos a partir de 120 incisivos centrais superiores. Os canais foram modelados com brocas Gates-Glidden #4 à #1 e, posteriormente, instrumentados até a lima K-file #60. Durante a instrumentação, os canais foram irrigados com soro fisiológico e, ao final, com NaOCl 5,25% por 3 minutos e EDTA por mais 3 minutos, seguidos por uma irrigação final com tampão fosfato salino (PBS). Os segmentos radiculares foram esterilizados e imersos individualmente em uma cultura de *E. faecalis*. Após 4, 6 e 8 semanas de incubação, os segmentos radiculares foram divididos em 4 grupos conforme a solução irrigadora utilizada (n=10): G1) PBS por 10 minutos; G2) PDT; G3) irrigação com NaOCl 1% por 10 minutos, e posteriormente com solução salina; G4) NaOCl 2,5% por 10 minutos, e posterior irrigação com solução salina. À partir dos segmentos radiculares, foram obtidos discos de dentina, os quais foram imersos em 2 mL de soro fisiológico. A solução foi agitada (vortex) por 20 segundos e então foram realizadas diluições sucessivas da suspensão e alíquotas de 10 µL foram plaqueadas em ágar Mueller-Hinton. As placas foram incubadas à 37°C por 48 h e 3 segmentos radiculares de cada biofilme (4, 6 e de 8 semanas) foram observados por meio de MEV. A terapia fotodinâmica e o NaOCl 2,5% eliminaram completamente o biofilme nos seus 3 estágios de maturação, enquanto que o NaOCl 1% eliminou 81,88% do biofilme de 4 semanas, 85,73% do biofilme de 6 semanas e 78,62% do biofilme de 8 semanas.

Apesar de sua destacada ação antibacteriana e elevado poder de dissolver matéria orgânica, o hipoclorito de sódio apresenta algumas características indesejáveis como a alta citotoxicidade (PASHLEY et al., 1985), o odor e gosto desagradáveis (ALVES et al., 2013) e o efeito de promover alterações na adesividade de materiais restauradores (FOUAD, 2011).

3.2. Nanopartículas de prata

As NP Ag vêm ganhando espaço nas pesquisas da área odontológica, principalmente devido ao seu amplo espectro antimicrobiano e antibiofilme (BRETT, 2006; SECINTI et al., 2011; CHENG et al., 2012; GARCÍA-CONTRERAS et al., 2013), principalmente contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, incluindo bactérias antibiótico-resistentes (PERCIVAL et al., 2007). As NP Ag também previnem a colonização bacteriana em diversas outras superfícies, como em implantes de titânio (SALATA, 2004; SECINTI et al., 2011; NOWACK; KRUG; HEIGHT, 2011), cateteres, próteses e vestuário (FOLDJBERG et al.; 2009). Além disso, as NP Ag também têm demonstrado satisfatória biocompatibilidade, especialmente em baixas concentrações (GOMES-FILHO et al., 2010; SIVIERI-ARAÚJO et al., 2013).

O mecanismo pelo qual as NP Ag desenvolvem sua atividade antimicrobiana ainda é motivo de investigação (PAL et al., 2007; KISHEN et al., 2008; RUPARELIA et al., 2008; SHARMA et al., 2009). É sabido que essa atividade é influenciada pelo tamanho da partícula (ONODA, 2011) e culmina com a interferência no processo de multiplicação bacteriana (FENG et al., 2000). Ainda são poucos os estudos envolvendo NP Ag na especialidade endodôntica.

Carreira et al. (2009) avaliaram, *ex vivo*, a capacidade antimicrobiana das NP Ag na forma de solução irrigadora e medicação intracanal. Os canais radiculares de 48 dentes humanos foram contaminados com *Escherichia coli*, *E. faecalis* e *Candida albicans*. Em seguida, os dentes foram divididos em 4 grupos (n=12) de acordo com a solução irrigadora e a medicação intracanal utilizada: G1) solução salina como irrigante e medicação intracanal (grupo controle); G2) NaOCl 1% associado ao creme Endo-PCT e hidróxido de cálcio; G3) solução de NP Ag 50ppm e hidróxido de cálcio; G4) solução de NP Ag 50ppm como irrigante e medicação intracanal. Os canais foram completamente preenchidos com a solução irrigadora, instrumentados até a lima K #50 e, posteriormente, o preparo foi complementado pela técnica escalonada até a lima K #80. A cada troca de instrumento, os canais foram irrigados com 3 mL da solução correspondente. Concluído o preparo químico-mecânico, todos os canais foram irrigados com 10 mL de EDTA-T 17% por 3 minutos e, em seguida, com 10 mL de solução fisiológica. Após , foram realizadas quatro coletas dos micro-organismos remanescentes contidos nos canais radiculares. A primeira, imediatamente após o preparo, chamada coleta de confirmação (1^a coleta). A segunda, após

sete dias de incubação (2ª coleta). Em seguida, foi inserida a medicação intracanal e os dentes foram incubados por mais 14 dias em estufa à 37°C. Após este período, a medicação intracanal foi removida com irrigação de solução salina e a 3ª coleta foi realizada. Os dentes foram mantidos em estufa a 37°C e passados mais 7 dias da 3ª coleta, foi realizada a 4ª coleta, a fim de verificar o crescimento dos possíveis micro-organismos remanescentes nas profundidades dos túbulos dentinários. Todas as soluções irrigadoras promoveram redução significativa do número de micro-organismos após a primeira coleta, porém um aumento foi evidenciado após 7 dias da instrumentação. Apesar da recolonização bacteriana nos canais irrigados com solução de NP Ag (G3 e G4), o número de UFC/mL permaneceu significativamente inferior quando comparado ao observado na coleta de confirmação ($p < 0,05$), demonstrando o efeito antimicrobiano residual da solução.

Sivieri-Araújo et al. (2013) avaliaram a biocompatibilidade da solução de NP Ag em dispersão comparada à ação do NaOCl 2,5%. Tubos de dentina foram preparados a partir de raízes de dentes bovinos. O espaço do canal foi ampliado sob irrigação de hipoclorito de sódio 2,5%. Metade dos tubos de dentina foram contaminados com 3 mL de saliva humana e incubados por 48h a 37°C. A outra metade permaneceu sem contaminação. Em seguida, 64 tubos infectados e 64 tubos não infectados foram irrigados com uma das seguintes soluções (n=16): dispersão de NP Ag 47 ppm ou 23 ppm, hipoclorito de sódio 2,5% ou solução salina. Os tubos de dentina foram inseridos no dorso de 32 ratos, onde permaneceram de 7 a 30 dias. Após o sacrifício dos ratos, os tubos com os tecidos circundantes foram removidos e preparados para a coloração com hematoxilina-eosina. Os tubos de dentina irrigados com NP Ag promoveram uma resposta tecidual semelhante a dos tubos irrigados com NaOCl 2,5%, sendo inicialmente severa, porém reduzida no 7º e 30º dias.

Recentemente, Wu et al. (2014) avaliaram a eficácia antibacteriana das NP Ag na forma de solução irrigadora e medicação intracanal contra um biofilme de *E. faecalis* formado na dentina radicular. Segmentos radiculares, obtidos a partir de pré-molares inferiores unirradiculados, foram seccionados longitudinalmente. O cimento foi removido e secções de dentina (n=100) de 4 x 4 x 1mm (largura x comprimento x altura) foram obtidas. As secções foram esterilizadas, imersas em 3 mL de suspensão de *E. faecalis* e incubadas em condições anaeróbicas à 37°C por 4 semanas. Quatro secções de dentina foram selecionadas aleatoriamente e observadas por meio de MEV para confirmar a presença de biofilme de *E. faecalis*. O restante

das secções foi dividido aleatoriamente em 4 grupos (n=24) de acordo com a solução irrigadora empregada: G1) 6 mL de NP Ag 0,1% por 2 minutos; G2) 6 mL de NaOCl 2% por 2 minutos; G3) 6 mL de solução salina por 2 minutos; e G4) sem irrigação (grupo controle). Metade das secções de dentina de cada grupo foi analisada por meio de MEV para avaliação da estrutura do biofilme pré e pós-irrigação. A outra metade foi corada com fluorescência LIVE-DEAD e observada por meio de CLSM. A atividade antibacteriana do gel de NP Ag, na forma de medicação intracanal, também foi avaliada: oitenta secções de dentina foram esterilizadas, imersas em 3 mL de suspensão de *E. faecalis* e incubadas em condições anaeróbicas à 37°C por 4 semanas. Em seguida, foram divididas aleatoriamente em 4 grupos (n=20) de acordo com a medicação intracanal utilizada: G1) gel de NP Ag 0,02%; G2) gel de NP Ag 0,01%; G3) hidróxido de cálcio; e G4) solução salina. As medicações foram colocadas em contato com a superfície dentinária, e as secções incubadas em meio anaeróbio à 37°C por 7 dias. Metade das secções de cada grupo foi avaliada por meio de MEV. A outra metade foi submetida à coloração LIVE/DEAD e analisada por meio de CLSM. Os autores demonstraram que a irrigação com NP Ag 0,1% não foi capaz de eliminar o biofilme. Entretanto, o uso do gel de NP Ag 0,02% na forma de medicação intracanal desestruturou significativamente o biofilme e resultou em menor número de células bacterianas viáveis comparado ao gel de NP Ag 0,01% ou hidróxido de cálcio. Os achados do estudo sugerem que a eficácia antibiofilme das NP Ag dependem do modo de aplicação.

Com base no exposto, fica evidente a necessidade de mais pesquisas envolvendo soluções irrigadoras/medicação intracanal de NP Ag, uma vez que seu potencial antimicrobiano e antibiofilme parecem promissores.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Preparo dos espécimes

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o parecer de número 359.070 (ANEXO A).

Para a realização deste estudo foram selecionados 42 dentes humanos, unirradiculados, com canais únicos e retos, extraídos por razões alheias a esta pesquisa e doados pelos pacientes através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A). Todos os dentes foram armazenados em solução de formol 10% até o início do experimento.

As coroas de todos os dentes foram removidas, de forma a se obter segmentos radiculares de aproximadamente 12 mm de comprimento. Com o auxílio de uma lima K #10 (Dentsply Maillefer, Ballaiques, Switzerland), foi estabelecida a patência apical. Todos os canais foram limpos e modelados, no sentido coroa-ápice, por meio de brocas Gates-Glidden #3 e #2, seguido de limas Flexofile (Dentsply Maillefer). O stop apical (1 mm aquém do forame apical = comprimento de trabalho) foi confeccionado com limas Flexofile #35. Um reservatório de 3 mm de profundidade foi confeccionado na porção cervical do canal com broca Gates-Glidden #4. Durante o preparo foi realizada uma irrigação com NaOCl 1% a cada troca de instrumento. A irrigação final foi realizada com EDTA 17% por 3 min e NaOCl 1% por 3 min.

Com exceção da porção cervical e entrada do canal, a superfície externa de todos os segmentos, incluindo o forame apical, foi impermeabilizada com duas camadas de adesivo epóxi (Araldite de presa rápida, Ciba-Geigy AS, Taboão da Serra, SP, Brazil). Os segmentos radiculares foram individualmente montados e fixados em dispositivos de vidro específicos e, em seguida, esterilizados com gás de óxido de etileno (ACECIL, Central de Esterilização Com. Ind. Ltda., Campinas, SP, Brazil).

4.2 Formação do biofilme

O inóculo foi preparado a partir de uma única colônia de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) em caldo TSB. A formação do biofilme no interior dos canais foi realizada sob condições assépticas.

Aliquotas de 0,2 mL da cultura de *E. faecalis* foram introduzidas nos canais radiculares com o auxílio de seringas e agulhas estéreis, sendo renovadas, diariamente, durante 7 dias. Os dispositivos contendo os segmentos radiculares foram incubados a 37°C durante o período experimental.

4.3 Confirmação da formação do biofilme

Para confirmar a formação de biofilme, 2 segmentos radiculares foram preparados para análise em MEV. Os segmentos foram fixados em glutaraldeído 2,5% tamponado com cacodilato 0,2M durante 12h a 4°C, seccionados longitudinalmente, lavados em tampão cacodilato 0,2M durante 1h com duas trocas, desidratados (em concentrações ascendentes de álcool etílico - 25%, 50%, 75% e 95% por 20 min cada, e 100% por 1h), montados em stubs, recobertos com ouro (300Å), e observados por meio de MEV, operando a 10 kW, nos aumentos de 1.000x, 2.000x e 3.000x.

4.4 Grupos experimentais e soluções irrigadoras

Os segmentos radiculares foram divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais (n=10), de acordo com a solução irrigadora empregada: G1) solução salina 0,85% (controle positivo); G2) NaOCl 1%; G3) NaOCl 5%; G4) solução de NP Ag 1%. Em cada segmento radicular foi realizada uma irrigação com auxílio de seringa e agulha estéreis. A agulha, calibrada em 10 mm, foi introduzida no espaço do canal radicular com movimentos de vai e vem e 5 mL da solução foram injetados durante 5 minutos (1 mL/min).

4.5 Contagem de UFC

Imediatamente após a irrigação, 3 cones de papel absorvente calibre #35 foram inseridos consecutivamente no interior do canal radicular de todos os segmentos e mantidos por 1 minuto. Em seguida, os 3 cones foram transferidos a um tubo Eppendorf estéril contendo 1 mL de solução salina. O tubo foi submetido à vibração em vortex por 30 segundos a fim de promover a remoção das bactérias e agregados bacterianos aderidos aos cones de papel. A partir desta suspensão bacteriana inicial foram feitas diluições decimais sucessivas. Uma alíquota de 100 µL foi removida dos tubos correspondentes às diluições de 100x e 1.000x, pipetadas e plaqueadas em triplicata em Ágar Mueller

Hinton. As placas foram incubadas a 37°C por 48h e, após este período, as UFC foram contadas.

4.6 Avaliação da presença do biofilme

De forma similar aos procedimentos descritos no item 4.3, 3 segmentos radiculares de cada grupo foram preparados e observados sob MEV.

4.7 Análise estatística

O conjunto de dados, representados pelos valores médios de UFC para cada grupo, foi analisado estatisticamente pelos testes Kruskal-Wallis e Tukey *post hoc* a um nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS

A análise por meio de MEV, realizada após o período de incubação de 7 dias, confirmou a presença de biofilme no interior do canal radicular, como mostra a Figura 1.

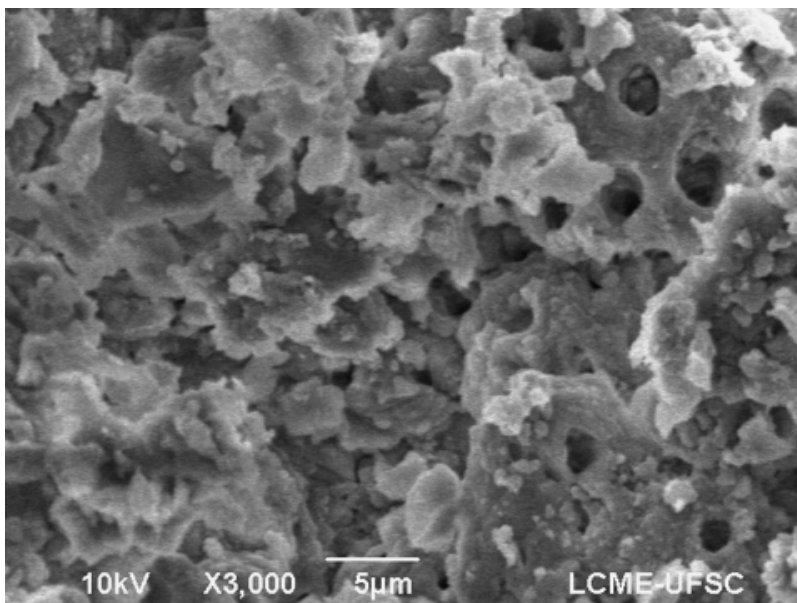


Figura 1: Fotomicrografia obtida em MEV evidenciando a presença do biofilme sobre a superfície dentinária do canal radicular após o período de incubação com *E. faecalis* (3.000x)

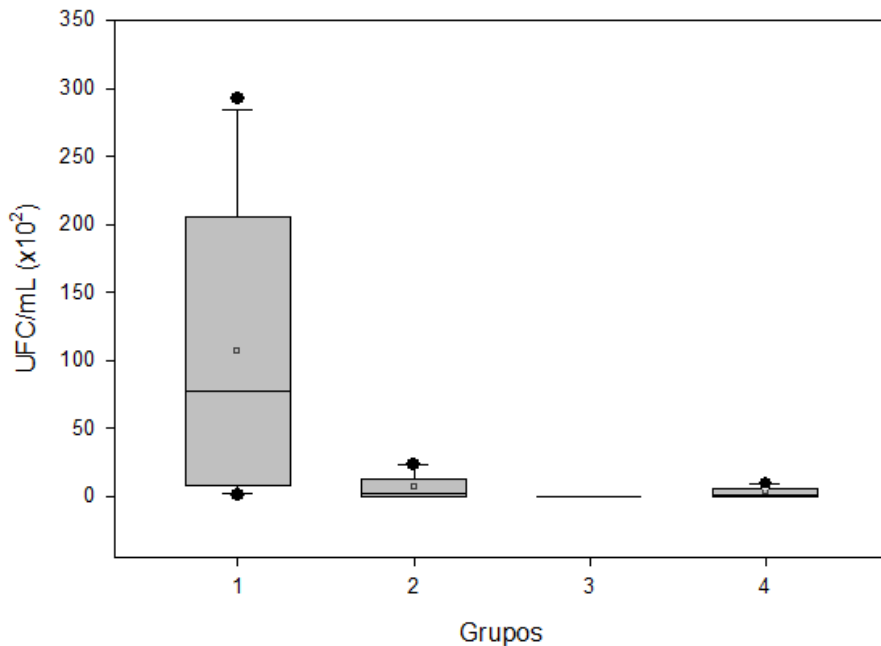
Os dados referentes aos resultados da contagem de UFC (média, mediana e desvio padrão) após o uso de cada solução estão expressos na Tabela 1 e Gráfico 1.

Tabela 1 Valores das médias, mediana e desvio padrão observados após o uso das diferentes soluções.

<i>Grupos</i>	<i>Solução</i>	<i>Média (UFC/mL)</i>	<i>Mediana (UFC/mL)</i>	<i>DP (UFC/mL)</i>
1	Salina	$1,03 \times 10^4$ ^A	$7,7 \times 10^3$	1×10^4
2	NaOCl 1%	6×10^2 ^{AB}	$1,5 \times 10$	$8,9 \times 10$
3	NaOCl 5%	0 ^B	0	0
4	NP Ag 1%	$2,46 \times 10^2$ ^B	5×10	$3,2 \times 10$

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$)

Gráfico 1 Box plot do número de UFC para cada grupo, ilustrando os valores médios, mínimos e máximos de UFC, mediana e desvio padrão.



As soluções de NaOCl 5% e Np Ag 1% apresentaram efetividade contra o biofilme de *E. faecalis* significativamente superior à da solução salina (Tukey *post hoc*, $p < 0.05$ –Tab. 1).

A irrigação com NaOCl 1% foi capaz de reduzir em 94,17% as UFC viáveis, quando comparada à irrigação com solução salina.

O uso da solução de NaOCl 5% promoveu o maior grau de desinfecção, reduzindo 100% das UFC viáveis. A solução de Np Ag 1% reduziu em 97,61% as UFC viáveis quando comparada à solução salina.

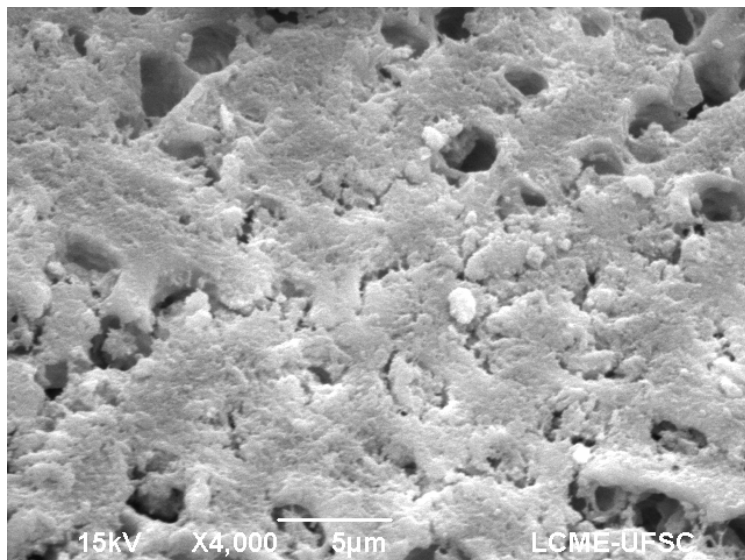


Figura 2: Fotomicrografia obtida em MEV mostrando a presença de um denso biofilme na superfície do canal radicular após irrigação com solução salina 0,85% (4.000x).

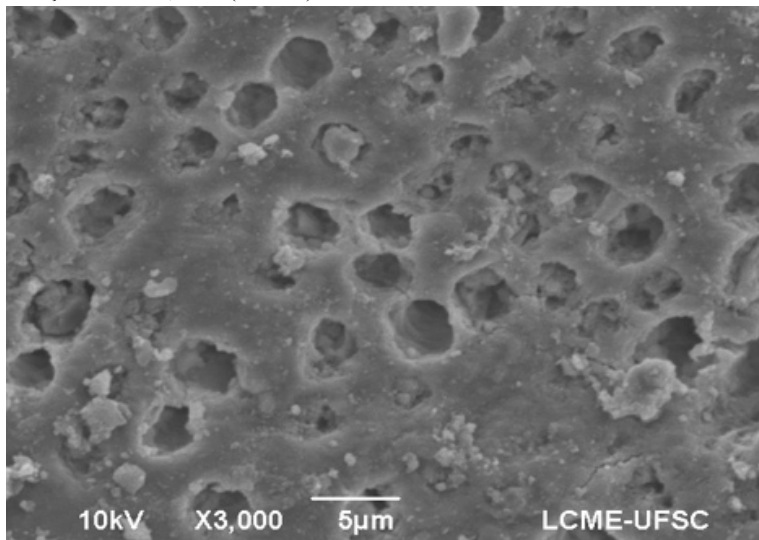


Figura 3 - Fotomicrografia obtida em MEV mostrando a superfície dentinária após irrigação com NaOCl 1% de uma amostra do G2: presença de biofilme parcialmente estruturado (3.000x).

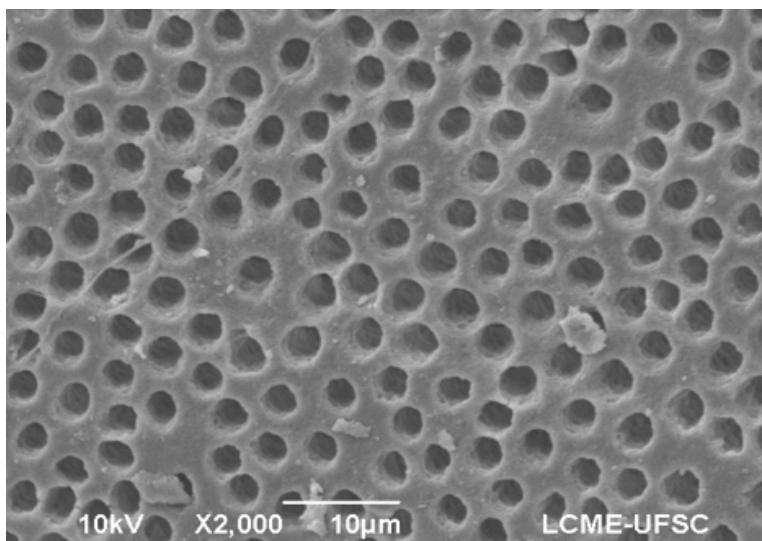


Figura 4 – Fotomicrografia obtida em MEV mostrando a superfície dentinária após irrigação com NaOCl 5% de uma amostra do G3: superfície livre de bactérias (2.000x).

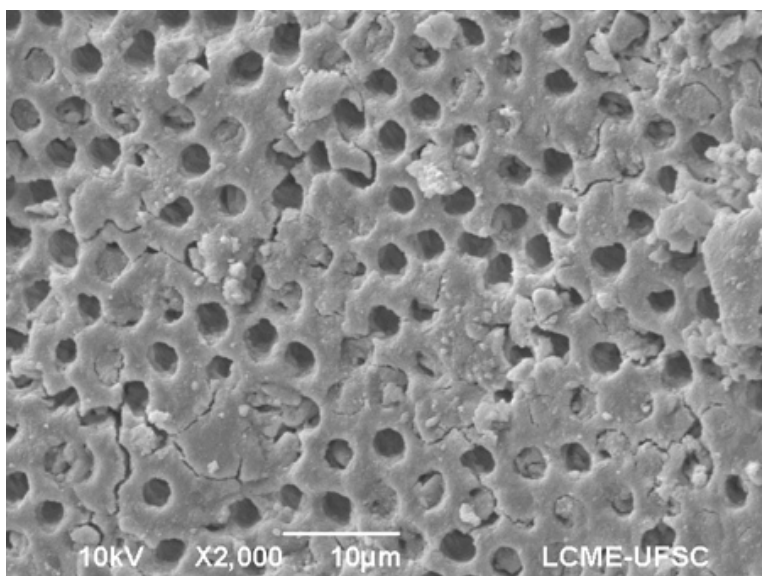


Figura 5 – Fotomicrografia em MEV mostrando a superfície dentinária após irrigação com NP Ag 1% de uma amostra do G4: presença de pequenos aglomerados bacterianos (2.000x).

6. DISCUSSÃO

Uma vez que a desinfecção do sistema de canais radiculares influencia diretamente o prognóstico do tratamento endodôntico, a capacidade antimicrobiana das soluções irrigadoras reveste-se de fundamental importância.

Os métodos empregados nesta pesquisa já foram validados em outros trabalhos. A metodologia de espalhamento em superfície e contagem de UFC aparece nos trabalhos de Bergmans et al., 2007; Hockett et al., 2008; Liu et al., 2010; Ozdemir et al., 2010; Prabhakar et al., 2010; Case et al., 2012; Halford et al., 2012; Meire et al., 2012; Rahimi et al., 2012; Chen et al., 2013; Neekalantan et al., 2013. Já a avaliação da presença do biofilme por meio de MEV é citada nas pesquisas de Hockett et al., 2008; Simayaji et al., 2010; Soares et al., 2010; Ozdemir et al., 2010; Bhuvu et al., 2010; Grundling et al., 2011; Seet et al., 2012; Bao et al., 2012; Pan et al., 2013.

A solução salina 0,85% foi empregada no grupo controle, uma vez que não apresenta poder antibacteriano e não tem a capacidade de dissolver matéria orgânica. Outros autores também utilizaram a solução salina como controle (PAPPEN et al., 2010; SOARES et al., 2010; DAGNA et al., 2011; CASE et al., 2012; TIRALI et al., 2012; XIE et al., 2012; ALVES et al., 2013; GUERREIRO-TANOMARU et al., 2014).

Na presente pesquisa, apesar de apresentar um excelente resultado, a solução de NaOCl 1% não foi capaz de eliminar totalmente o biofilme, proporcionando um resultado inferior aos obtidos com as soluções de NaOCl 5% e NP Ag 1%. Concordando, outros estudos também demonstraram que a ação antibiofilme do NaOCl 1% não é 100% eficaz (DUNAVANT et al., 2006; PAZ, 2010; CASE et al., 2012; RAHIMI et al., 2012), apresentando valores como 91% (De PAZ, 2010) e 93,5% (CASE et al., 2012), muito semelhante ao aqui encontrado (94,17%).

Índices menores na eficiência do NaOCl 1% podem estar relacionados a diferentes fatores, como a presença estruturada e organizada do biofilme de *E. faecalis*, que confere aos micro-organismos maior resistência frente aos agentes químicos (DUNAVANT et al., 2006; CASE et al., 2012), principalmente quando esses são utilizados em baixas concentrações (BAUMGARTNER e CUENIN, 1992; GOMES et al., 2001).

Já foi demonstrado que o uso de NaOCl em baixa concentração, de 1% (VIANNA et al. 2004) a 1,5% (OLIVEIRA et al., 2007), resulta

em uma menor ação antimicrobiana quando comparado ao NaOCl em altas concentrações, uma vez que a concentração de ácido hipocloroso (HClO) não dissociado, composto químico responsável pelo efeito antimicrobiano da solução (OLIVEIRA et al., 2007), é mais baixa.

Com relação à solução de NaOCl 5%, outras investigações dão suporte aos resultados obtidos no presente estudo (GOMES et al., 2001; PRABHAKAR et al., 2010; RETAMOZO et al., 2010; DAGNA et al., 2011; XIE et al., 2012) e reforçam que o NaOCl 5% é capaz de eliminar efetivamente os micro-organismos do canal radicular (JEANSONNE e WHITE, 1994; SIQUEIRA et al., 1998; SUNDQVIST et al.; 1998; D'ARCANGELO et al., 1999). É provável que a eliminação total de *E. faecalis* do canal radicular promovida pelo NaOCl 5% esteja relacionada à alta concentração de HClO não dissociado na solução, resultando, conseqüentemente, em uma maior ação antimicrobiana (BYSTROM & SUNDQVIST, 1983; GOMES et al., 2001; VIANNA et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007).

A irrigação dos canais com a solução de NP Ag 1% reduziu em 97,61% as UFC viáveis. Resultados satisfatórios também foram demonstrados em outros estudos (CARREIRA et al., 2009; WU et al., 2014), nos quais a irrigação com solução de NP Ag 50 ppm promoveu redução total de *E. faecalis* imediatamente após o preparo químico-cirúrgico de canais radiculares contaminados (CARREIRA et al., 2009). O uso de NP Ag 0,02% como medicação intracanal demonstrou um rompimento significativo da integridade do biofilme de *E. faecalis*, resultando em um menor número de micro-organismos viáveis quando comparado ao hidróxido de cálcio (WU et al., 2014).

O excelente resultado proporcionado pelas NP Ag 1% pode estar relacionado ao pequeno tamanho das partículas (5-20nm), uma vez que o efeito antimicrobiano da prata depende da superfície de contato (HIDALGO e DOMÍNGUEZ, 1998; BRETT 2006). Assim, quanto menor for o tamanho da partícula, maior será o contato da prata com os micro-organismos. A prata se liga à membrana celular e penetra no interior da bactéria (ONODA, 2011), acarretando a inibição dos sistemas enzimáticos da cadeia respiratória bacteriana, através da inativação de enzimas essenciais para a produção de ATP (YAMANAKA et al., 2005) e a alteração da síntese do DNA (HIDALGO e DOMÍNGUEZ, 1998; BRETT 2006), impedindo o processo de replicação bacteriana (FENG et al., 2000).

7. CONCLUSÃO

Com base na metodologia aplicada e nos resultados obtidos foi possível concluir que as soluções de NaOCl 1% e 5% e de NP Ag apresentam excelente efeito antibiofilme.

8. REFERÊNCIAS

- Abdullah M, Ng YL, Gulabivala K, Moles DR, Spratt DA. Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. J Endod 2005;31:30-6.
- Alves FRF, Silva MG, Rôças IN, Siqueira Jr JF. Biofilm biomass disruption by natural substances with potential for endodontic use. Braz Oral Res 2013;27(1):20-25.
- Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque MC, González-Rodríguez MP, Valderrama MJ, Baca P. J Endod 2010;36:87-90.
- Baca P, Junco P, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual and antimicrobial activity of final irrigation protocols on *Enterococcus faecalis* biofilm in dentin. J Endod 2011;37:363-366.
- Bao XD, Yao N, Guo HJ, Zhang CF, Yue L. Desinfection effects of MTAD on apical isthmus of the root canal system: a scanning electron microscopic evaluation. Beijing Da Xue Xue Bao 2012; 18:34-8.
- Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. J Endod 1992;18:605-12.
- Bergmans L, Moisiadis P, Huybrechts B, Meerbeek V, Quirynen M, Lambrechts P. Effect of photo-activated disinfection on endodontic pathogens ex vivo. International Endodontic Journal 2007;41:227-239.
- Bhuva B, Patel S, Wilson R, Niazi S, Beighton D, Mannocci F. The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms in extracted single-rooted human teeth. Int Endod J 2010;43:241-250.
- Brett DW. A discussion of silver as an antimicrobial agent: alleviating the confusion. Ostomy Wound Manage 2006;52:34-41.
- Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5% sodium hypochlorite in endodontic therapy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1983;55:307-12.

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;1:170-175.

Carreira CM. Avaliação *in vitro* do controle microbiano e da neutralização de endotoxinas presentes em canais radiculares por nanopartículas de prata [tese]. São Paulo. Faculdade de Odontologia de São Paulo;2009.

Case PD, Bird PS, Kahler WA, George R, Walsh LF. Treatment of root canal biofilms of *Enterococcus faecalis* with ozone gas and passive ultrasound activation. *J Endod* 2012;38:523-526.

Chen X, Li P, Wang X, Gu M, Zhao C, Sloan AJ, Lv H, Yu Q. *Ex vivo* antimicrobial efficacy of Strong acid electrolytic water against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Int Endod J* 2013;46:938-46.

Cheng L, Weir MD, Xu HHK, Antonucci JM, Kraigsley AM, Lin NJ; Lin-Gibson S, Zhou X. Antibacterial amorphous calcium phosphate nanocomposites with a quaternary ammonium dimethacrylate and silver nanoparticles. *Dent Mater* 2012;28:561-572.

Chivatxaranukul P, Dashper SG, Messer HH. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2008;41:873-82.

Dagna A, Arciola CR, Floridini F, Seribante A, Saino E, Visai L, Poggio C. In vitro evaluation of antimicrobial efficacy of endodontic irrigants. *Int J Artif Organs* 2011;34:914-919.

De Paz LE, Bergenholtz G, Svensäter G. The effects of antimicrobials on endodontic biofilms bacteria. *J Endod* 2010;36:70-77.

Du X, Huang C, Frencken JE, Yang T. Inhibition of early biofilm formation by glass-ionomer incorporated with chlorhexidine in vivo: a pilot study. *Aust Dent J* 2012;57:58-64.

Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod* 2006;32:527-531.

D'Arcangelo C, Varvara G, De Fazio P. An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. *J Endod*. 1999;25(5):351-353.

Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui FZ, Kim TM, Kim JO. A mechanism study of antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater* 2000;52:662-668.

Foldjberg R, Olesen P, Hougaard M, Dang DA, Hoffmann HJ, Autrup H. PVP-coated silver nanoparticles and silver ions induce reactive oxygen species, apoptosis and necrosis in THP-1 monocytes. *Toxicol Lett* 2009;190(2):156-62.

Fouad AF. The microbial challenge to pulp regeneration. *Adv Dent Res* 2011;23(3):285-289.

Fouad AF, Zerella J, Barry J, Sapanhberg LS. Molecular detection of *Enterococcus faecalis* species in root canals of therapy-resistant endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;99:112-8.

García-Contreras R, Argueta-Figueroa L, Mejía-Rubalcava C, Jiménez-Martínez R, Cuevas-Guajardo S, Sánchez-Reyna PA, Mendieta-Zeron H. Perspectives for the use of silver nanoparticles in dental practice. *International Dental Journal* 2011;61:297-301.

Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2001;34:424-8.

Gomes-Filho JE, Silva FO, Watanabe S, Cintra ALT, Tendoro KV, Dalto LG, Pacanaro SV, Lodi CS, De Melo FFF. Tissue Reaction to silver nanoparticles dispersion as an alternative irrigating solution. *J Endod* 2010;36:1698-1702.

Gründling GL, Zechin JG, Jardim WM, de Oliveira SD, de Figueiredo JA. Effect of ultrasonics on *Enterococcus faecalis* biofilm in a bovine tooth model. *J Endod* 2011;37:1128-33.

Guerreiro-Tanomaru JM, Nascimento CA, Faria-Júnior NB, Graeff MSZ, Watanabe E, Tonomaru-Filho M. Antibiofilm activity of irrigating solutions associated with cetrimide. Confocal laser scanning microscopy. *Int Endod J* 2014;1-6.

Gupta A, Duhan J, Tewari S, Sangwan P, Yadav A, Singh G, Juneja R, Saini H. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of *Syzygium aromaticum*, *Ocimum sanctum* and *Cinnamomum zeylanicum* plant extracts against *Enterococcus faecalis*: a preliminary study. *Int Endod J* 2013;46:775-83.

Halford A, Ohl CD, Azarpazhooh A, Barsani B, Friedman S, Kishen A. Synergistic effect of microbubble emulsion and sonic or ultrasonic agitation on endodontic biofilm in vitro. *J Endod* 2012;38:1530-1534.

Hancock H, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2001;91:579-86.

Hidalgo E, Domínguez C. Study of cytotoxicity mechanisms of silver nitrate in human dermal fibroblasts. *Toxicol Lett* 1998;15:169-79.

Hockett JL, Dommisch JK, Johnson JD, Cohenca N. Antimicrobial efficacy of two irrigation techniques in tapered and nontapered canal preparations: an in vitro study. *J Endod* 2008;34(11):1374-7.

Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod*. 1994;20(6):276-278.

Kishen A, Shi Z, Shrestha A, Neoh KG. An investigation on the antibacterial and antibiofilm efficacy of cationic nanoparticles of root canal disinfection. *J Endod* 2008;34:1515-1520.

Love RM. *Enterococcus faecalis*: a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J* 2001;34:399-405.

Meire MA, Coenye T, Nelis HJ, De Moor RJG. Evaluation of Nd:YAG irradiation, antibacterial photodynamic therapy and sodium hypochlorite treatment on *Enterococcus faecalis* biofilms. *Int Endod J* 2012;45:482-491.

Melo MAS, Cheng L, Weir MD, Rodrigues LKA, Xu HHK. Novel dental adhesives containing nanoparticles of silver and amorphous calcium phosphate. *Dent Mater* 2013;29:199-210.

Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998;31:1-7.

Moller Å Jr. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. [Thesis]. Goteborg, Sweden: University of Goteborg. 1996.

Nair, PNR. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J* 2006;39:249-281.

Nair PNR, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after 'one-visit' endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99: 231–252.

Neelakantan P, Subbarao C, Sharma S, Subbarao CV, Garcia-Godoy F, Gutmann JL. Effectiveness of curcumin against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Acta Odontol Scand* 2013;71(6):1453-7.

Nowack B, Krug HF, Height M. 120 years of nanosilver history: Implications of policy markets. *Environ Sci Technol* 2011;45:1177-83.

Oliveira DP, Barbizam JVB, Trope M, Teixeira FB. In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 2007;103:702-6.

Onoda HK. Avaliação in vitro da ação antimicrobiana de três cimentos endodônticos modificados com nanopartículas de prata [tese]. Campo Grande. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul; 2011.

Ozdemir HO, Buzoglu HD, Calt S, Stabholz A, Steinberd D. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid and sodium hypochlorite irrigation on *Enterococcus faecalis* biofilm colonization in youg and old human root canal dentin: in vitro study. J Endod 2010;36:842-846

Pablo OVd, Estevez R, Peix Sanchez M, Heilborn C, Cohenca N. Root anatomy and canal configuration of the permanent mandibular first molar: a systematic review. J Endod 2010;36:1919-31.

Pal S, Tak YK, Song JM. Does de antibacterial activity of nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. Applied and Environmental Microbiology 2007; Mar:1712-1720.

Pan J, Sun K, Liang Y, Sun P, Yang X, Wang J, Zhang J, Zhu W, Fang J, Becker KH. Cold plasma therapy of a tooth root canal infected with *Enterococcus faecalis* biofilms in vitro. J Endod 2013;39:105-10.

Pappen FG, Shen Y, Qian W, Leonardo MR, Giardino L, Haapasalo M. In vitro antibacterial action of tetraclean, MTAD and five experimental irrigation solutions. Int Endod J 2010;43:528-535.

Pashley EL, Birdson NL, Bowman K, Pashley DH. Citotoxic effects of NaOCl on vital tissue. J Endod 1985; 11:525-528.

Peciuliene V, Baciuniene I, Eriksen H, Haapasalao M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root filled canals in a Lithuanian population. J Endod 2000; 26:593-5.

Percival SL, Bowler PG, Dolman J. Antimicrobial activity of silver-containing dressings on wound microorganisms using an in vitro biofilm model. Int Wound J 2007;4:186-191.

Pinheiro ET, Gomes BPF, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root filled teeth with periapical lesions. Int Endod J 2003;36:1-11.

Poggio C, Arciola CR, Rosti F, Scribante A, Saino E, Visai L. Adhesion of *Streptococcus mutans* to different restorative materials. Int J Artif Organs. 2009;32:671-677.

Poggio C, Arciola CR, Dagna A, Chiesa M, Sforza D, Visai L. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite-based irrigating solutions. *Int J Artif Organs*. 2010;33(9):654-659.

Portenier I, Waltimo TMT, Haapasalo M. *Enterococcus faecalis* – the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. *Endodontics Topics* 2003;6:135-159.

Prabhakar J, Senthilkumar M, Priya MS, Mahalakshmi K, Sehgal PK, Sukumaran VG. Evaluation of antimicrobial efficacy of herbal alternatives (triphala and green tea polyphenols), MTAD, and 5% sodium hypochlorite against *enterococcus faecalis* biofilm formed on tooth substrate: an in vitro study. *J Endod* 2010;36:83-86.

Radcliffe CE, Potouridou L, Quereshi R, Hababeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. Naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2004;37:438-446.

Rahimi S, Shahi S, Gholizadeh S, Shakouie S, Rikhtegaran S, Soroush BMH, Ghojzadeh M, Froughrehani M, Abdolrahimi M. Bactericidal effects of Nd:YAG laser irrigation and sodium hypochlorite solution of *Enterococcus faecalis* biofilm. *Photomed Laser Surg* 2012;30:637-641.

Rai MK, Deshmukh SD, Ingle AP, Gade AK. Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *J Appl Microbiol* 2012;112: 841–52.

Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2010;36:520-3.

Ricucci D, Siqueira JF Jr. Biofilms and apical periodontitis study of prevalence and association with clinical histopathologic findings. *J Endod* 2010; 36: 1277–1288.

Ruparelia JP, Chatterjee AK, Duttagupta SP, Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomater* 2008;4(3):707-13.

Salata O. Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J Nanobiotechnology* 2004;2(1):1-6.

Secinti KD, Ozalp H, Attar A, Sargon MF. Nanoparticle silver ion coatings inhibit biofilm formation on titanium implants. *Journal of clinical neuroscience* 2011;18:391-395.

Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J* 2005;38:735–42.

Seet AN, Zilm PS, Gully NJ, Cathro PR. Qualitative comparison of sonic or laser energisation of 4% sodium hypochlorite on an enterococcus faecalis biofilm grown in vitro. *Aust Endod J* 2012;38:100-106.

Sharma VK, Yngard RA, Lin Y. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Adv Colloid Interface Sci* 2009;145(1-2):83-96.

Siqueira JF Jr, Batista MMD, Fraga RC, de Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented Gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod.* 1998;25(6):414-416.

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

Sivieri-Araujo G, Santos LMS, Queiroz IOA, Wayama MT, Martins CM, Dezan-Júnior E, Cintra LTA, Gomes-Filho JE. Avaliação das nanopartículas de prata como solução irrigadora. *Dental Press Endod* 2013;3(2);16-23.

Soares JA, Roque de Carvalho MA, Cunha Santos SM, Mendonça RM, Ribeiro-Sobrinho AP, Brito-Júnior M, Magalhães PP, Santos MH, de Macêdo Farias L. Effectiveness of chemomechanical preparation with alternating use of sodium hypochlorite and EDTA in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod* 2010;36:894-8.

Somayaji K, Acharya SR, Bairy I, Prakash PY, Rao MS, Ballal NV. In vitro scanning electron microscopic study on the effect of doxycycline

and vancomycin on enterococcal induced biofilm. Iran Endod J 2010;5:53-8.

Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles and antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as model for Gram-negative bacteria. J Colloid Interface Sci 2004;275:177-182.

Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. Int Endod J 2011;45:363-371.

Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owartz CM. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod 2006;32:93-8.

Sundqvist G, Frigidor D, Persson S, Sjorgren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;85:86-93.

Tirali RE, Bodur H, Ece G. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite, chlorhexidine gluconate and octeinidine dihydrochloride in elimination of microorganisms within dentinal tubules of primary and permanent teeth. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2012;17:517-22.

Vianna ME, Gomes BPFA, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004;97:79-84.

Wang Z, Shen T, Haapasalo M. Effectiveness of endodontic disinfecting solutions against young and old *Enterococcus faecalis* biofilms in dentin canals. J Endod 2012;38:1376-1379.

Williamson AE, Cardon JW, Drake DR. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. J Endod 2009;35:95-97.

Wu D, Fan W, Kishen A, Gutmann J, Fan B. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod 2014;40:285-90.

Xie Q, Johnson BR, Wenckus CS, Fayad MI, Wu CD. Efficacy of berberine, an antimicrobial plant alkaloid, as an endodontic irrigant against a mixed-culture biofilm in an in vitro tooth model. *J Endod* 2012;38:1114-1117.

Yamanaka M, Hara K, Kudo J. Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005;71:7589-93.

Zand V, Milani AS, Amini M, Barhaghi MHS, Lotfi M, Rikhtegaran S, Sohrabi A. Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy and sodium hypochlorite of monoculture biofilms of *Enterococcus faecalis* at different stages of development. *Photomed Laser Surg* 2014;32:245-51.

Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006;32:389-398. *Photomed Laser Surg* 2006;1-7.

Zhang K, Melo MAS, Cheng L, Weir MD, Bai Y, Xu HHK. Effect of quaternary ammonium and silver nanoparticle-containing adhesives on dentin bond strength and dental plaque microcosmo biofilms. *Dent Mater* 2012;28:842-852.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o número 359.070

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito antimicrobiano de diferentes soluções irrigadoras sobre o biofilme do canal

Pesquisador: WILSON TADEU FELIPPE

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 20001313.0.0000.0121

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 359.070

Data da Relatoria: 12/08/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo vinculado a um projeto de doutorado do Programa de pós-graduação em endodontia da UFSC. O presente estudo caracteriza-se como laboratorial ao examinar em dentes humanos ex vivo a capacidade antimicrobiana de diferentes soluções irrigadoras, com e sem ativação ultrassônica, contra o biofilme de *E. faecalis* estabelecido no canal radicular.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar, ex vivo, a capacidade antimicrobiana das soluções de hipoclorito de sódio 1% e 5%, nanopartículas de prata 1%, nanopartículas de óxido de zinco e clorexidina 2%, com e sem ativação ultrassônica, contra o biofilme de *E. faecalis* estabelecido no canal radicular. Avaliar, por meio de contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs), a capacidade antimicrobiana das soluções-teste, com e sem ativação ultrassônica, contra o biofilme de *E. faecalis* estabelecido na superfície do canal radicular. Analisar, se presente, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), a arquitetura do biofilme de *E. faecalis* na superfície do canal radicular, após a irrigação com as soluções-teste.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

os pesquisadores apontam como benefícios que "A utilização de dentes extraídos é necessária para simular ex vivo uma situação o mais semelhante possível da realidade clínica. Uma vez

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima
Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-900
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-9206 **Fax:** (48)3721-9696 **E-mail:** cep@reitoria.ufsc.br

Continuação do Parecer: 359.070

confirmada a efetividade das soluções irrigadoras e dos métodos de irrigação propostos, os resultados da pesquisa serão divulgados através de publicações, congressos e cursos, de modo que a classe odontológica/endodôntica seja informada e a pratique de forma a beneficiar a sociedade em geral." os pesquisadores afirmam que o presente estudo não traz riscos aos sujeitos dos quais os dentes serão extraídos pois estes serão os doadores dos dentes extraídos por indicação clínica não relacionado ao presente estudo. os pesquisadores informam que os riscos relacionados a extração são os inerentes ao procedimento clínico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está bem fundamentada com uma revisão acerca da utilização das soluções a serem utilizadas no procedimento. Como os dentes serão analisados ex vivo, a partir da doação voluntária dos pacientes da clínica odontológica que tem indicação clínica de remoção dos dentes a serem analisados conforme os critérios presentes no projeto original. De igual forma os doadores dos dentes assinarão um termo de doação e serão assistidos no procedimento pelos profissionais da clínica odontológica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta o TCLE com o termo de doação adequado aos sujeitos explicitando os detalhes da pesquisa.

Recomendações:

sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

aprovado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima
Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-900
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-9206 **Fax:** (48)3721-9696 **E-mail:** cep@reitoria.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 359.070

FLORIANOPOLIS, 13 de Agosto de 2013

Assinador por:
Washington Portela de Souza
(Coordenador)

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima
Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-900
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-9206 **Fax:** (48)3721-9696 **E-mail:** cep@reitoria.ufsc.br

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE CURSO: ODONTOLOGIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, Gabriela Vieira dos Santos, aluna do curso de Odontologia da UFSC, juntamente com meu orientador Prof. Dr. Wilson Tadeu Felipe, desenvolveremos a pesquisa ***“Efeito antibiofilme de soluções de hipoclorito de sódio e de nanopartículas de prata”***, com o objetivo de avaliar diferentes soluções quanto à capacidade de matar bactérias dentro do canal do dente, para que possamos identificar a solução mais efetiva e assim obtermos maior chance de sucesso do tratamento. O seu dente será extraído porque não existem formas de tratamento para recuperá-lo, portanto, por um motivo alheio a esta pesquisa. Os riscos e/ou desconforto são aqueles associados aos procedimentos de extração. A pesquisa em si não oferecerá nenhum tipo de riscos e/ou desconforto.

Imediatamente após a realização do procedimento de extração pelo cirurgião-dentista, os dentes serão armazenados em solução adequada (solução de formol 10%) até o início do estudo. Todos os procedimentos descritos a seguir serão realizados no laboratório de Endodontia, da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Campus Trindade. Os dentes serão processados para a pesquisa - o espaço do canal radicular de cada dente será alargado. Em seguida serão colocadas bactérias dentro do canal. Depois de 24h todos os canais serão lavados com as soluções-teste. Após, será realizada uma análise para ver qual solução matou mais bactérias. Os remanescentes dos dentes utilizados no estudo serão armazenados em recipientes adequados e identificados (Biorrepositório).

Para esclarecer qualquer dúvida em relação a essa pesquisa você poderá entrar em contato comigo (Gabriela) pelo telefone: (48) 9927-8779,

residente na Rua Bocaiúva, 2205, Florianópolis - SC ou com o pesquisador principal (Dr. Wilson Felipe): (48) 9982-8300, residente na Rua Presidente Coutinho, 179, Florianópolis - SC. Se você concordar em doar o seu dente, garantimos que ele será utilizado somente neste trabalho, e que não haverá ligação/identificação entre o dente doado e o paciente. Garantimos também que, se for o caso, a sua desistência na doação do dente não implicará em nenhum tipo de prejuízo. Informamos que seu dente não será utilizado em nenhum outro tipo de pesquisa biológica.

Assinatura da pesquisadora _____

Assinatura do orientador _____

Eu _____,

RG _____ declaro que entendi o que me foi explicado, compreendi a necessidade da pesquisa **“Efeito antibiofilme de soluções de hipoclorito de sódio e nanopartícula de prata”**, e concordo que meu dente, extraído por motivos alheios a esta pesquisa, seja utilizado na realização da mesma.

Assinatura do doador

Florianópolis, ____ de _____ de 2013.

