



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**  
**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**LETÍCIA KARINA DE MEDEIROS RODRIGUES BEZERRA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E DISSOLUÇÃO  
TECIDUAL DE FORMULAÇÕES EM GEL DE NaOCI**

**NATAL/RN**

**2018**

LETÍCIA KARINA DE MEDEIROS RODRIGUES BEZERRA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E DISSOLUÇÃO TECIDUAL  
DE FORMULAÇÕES EM GEL DE NaOCl

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à banca examinadora do  
Curso de Odontologia da Universidade  
Federal do Rio Grande do Norte como pré-  
requisito a obtenção do título de cirurgiã-  
dentista.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Roberto  
Dametto

NATAL/RN

2018

Catálogo na Fonte. UFRN/ Departamento de Odontologia  
Biblioteca Setorial de Odontologia “Profº Alberto Moreira Campos”.

Bezerra, Letícia Karina de Medeiros Rodrigues.

Avaliação da atividade antibacteriana e dissolução tecidual de formulações em gel de NaOCl / Letícia Karina de Medeiros Rodrigues Bezerra. – 2018.

25 f. : il.

Orientador: Orientador: Prof. Dr. Fábio Roberto Dametto

Monografia (Graduação em Odontologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Odontologia, Natal, 2018.

1. Polpa dentária - Monografia. 2. Hipoclorito de sódio - Monografia. 3. Dissolução - Monografia. 4. Tensoativos - Monografia. I. Dametto, Fábio Roberto. II. Título.

RN/UF/BSO

Black D 24

LETÍCIA KARINA DE MEDEIROS RODRIGUES BEZERRA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E DISSOLUÇÃO TECIDUAL  
DE FORMULAÇÕES EM GEL DE NaOCI

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à banca examinadora do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte como pré-requisito a obtenção do título de cirurgiã-dentista.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado e aprovado em 05 de dezembro de 2018, pela seguinte Banca Examinadora:

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Fábio Roberto Dametto  
(Orientador)  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

---

Profa. Dra. Letícia Maria Menezes Nóbrega  
(1º examinador)  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

---

Prof. Dr. Marcílio Dias Chaves de Oliveira  
(2º examinador)  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me possibilitar chegar até aqui, me reerguendo a cada obstáculo, fortalecendo e iluminando meus caminhos para cada conquista.

À minha família, por todos os esforços para que eu alcançasse meus objetivos, depositando toda confiança e esperança em mim. Em especial, minha mãe, Renata, que fez além do que pôde para permitir a realização do meu sonho e enfrentou cada barreira ao meu lado com todo seu amor, às minhas avós, Dalvani e Aldenora, minha tia Naedja, meus tios, minha madrinha Deda e meu pai Nenilvan e meus irmão, por todo carinho, torcida e auxílio, e à tia Patrícia, Jovan, Esther e Scarlett por me acolherem esses anos como filha/irmã, com toda paciência e amor.

Aos meus amigos, fortalezas dos dias mais difíceis, trazendo sorrisos, força e sendo lar em todas as situações. Com destaque àqueles de longa data, que permaneceram fortes e nunca me abandonaram, que torceram e lutaram junto a mim, estando comigo nas alegrias e nas horas mais difíceis: Efigênia, Aianne, Bruna, João Ricardo, João Pedro, Ilona, Afonso, minha eterna gratidão. E aos amigos que conquistei em Natal, que foram peças chaves na minha história.

À minha querida 104, que foi muito mais que uma turma, com quem convivi todos os dias e de onde eu tirei grandes amigos que levarei por toda vida. Em especial, Lucas, Igor e Isabela, e seus pais, que me acolheram como família e zelaram por mim como tal, todo amor por vocês. A Karolina, minha dupla, que cresceu junto comigo e tanto me ensinou, que compreendeu minhas limitações e me fez enxergar além do que eu podia ver, ultrapassando os laços acadêmicos, se tornando uma grande amiga. E a Silas, Taynara e Caroline por toda paciência e ajuda nesses anos como grupo.

Ao meu orientador, professor Dr. Fábio Dametto, que tive a honra de conhecer e ser aluna, me fazendo amar a Endodontia em seus mínimos detalhes. Obrigada por ter sido primordial para o meu presente e futuro, pela ótima convivência, pelos ensinamentos e paciência.

À Cristiane, por auxiliar nessa jornada final, me passando conhecimento e apoio com todo carinho para elaboração desse trabalho.

Aos meus professores, por toda a dedicação e o amor pela profissão.

Aos funcionários do Departamento, por todo carinho, cuidado, companhia e compreensão.

Aos pacientes, que me permitiram além de experiência técnica, grandes avanços pessoais e humanitários.

A todos vocês, meus mais sinceros agradecimentos.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Géis de NaOCl com LESS nas diversas formulações (%)	13
Figura 2 -	Preparação da suspensão de <i>Enterococcus faecalis</i> em solução salina estéril.....	15
Figura 3 -	Semeadura de placa estéril de BHI ágar com alça de platina.....	15
Figura 4 -	Placas de BHI ágar semeadas com <i>E. faecalis</i> . As placas foram sinalizadas quanto à formulação testada em cada campo e produzidas para experimento em triplicata.....	15
Figura 5 -	Disposição dos discos nas placas de petri.....	15
Figura 6 -	Cortes teciduais padronizados em balança de precisão com peso de 0,02g.....	16
Figura 7 -	Tubos de ensaio distribuídos em triplicata para cada formulação a ser testada.....	16
Figura 8 -	Cortes teciduais distribuídos nos tubos de ensaio imergidos na formulação identificada.....	16

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias e desvio padrão dos diâmetros dos halos de inibição formados no teste de disco-difusão em ágar com <i>Enterococcus faecalis</i> (em milímetros).....	18
Tabela 2 - Média e desvio padrão do tempo (minutos) de dissolução tecidual.....	19



## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** O NaOCl é a principal substância química auxiliar utilizada no preparo biomecânico do sistema de canais radiculares, porém, sua toxicidade exige cuidados durante o procedimento clínico. Visando manter sua utilização, de modo mais seguro na forma de géis, a adição de tensoativos, ou surfactantes, como o lautil éter sulfato de sódio (LESS) ao NaOCl vem sendo estudada. Assim, foram analisados géis de NaOCl 2,5% desenvolvidos com diferentes concentrações de LESS, quanto à manutenção da sua capacidade de dissolução tecidual e atividade antibacteriana. **MÉTODOS:** A partir de hipoclorito de sódio 2,5% foram desenvolvidos 7 géis experimentais com diversas concentrações do veículo LESS. Para teste de atividade antimicrobiana utilizou-se o método de halos de inibição sobre *E. faecalis*. Para dissolução tecidual, foi observado o tempo de dissolução total para fragmentos de tecido bovino em cada formulação, ambos os testes foram feitos em triplicata. **RESULTADOS:** A atividade antibacteriana dos géis não diferiu estatisticamente em nenhuma das formulações. O tempo de dissolução tecidual apresentou diferenças significativas quando comparada ao controle (NaOCl 2,5%) para todas as formulações testadas. **CONCLUSÕES:** O LESS é uma alternativa de veículo para formulações de NaOCl em gel a serem utilizadas durante o preparo do canal radicular, não interferindo na sua capacidade antibacteriana, aumentando o tempo de dissolução tecidual, porém proporcionando maior segurança com relação à riscos de extravasamento.

**Palavras-chave:** Polpa dentária. Hipoclorito de Sódio. Dissolução. Tensoativos.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** The NaOCl is recommended as the main root canal irrigant, but it has limitations. The addition of surfactants like LESS to NaOCl has been explored to improve your action as an endodontic irrigator. NaOCl 2,5% gels developed with different concentrations of sodium lauryl ether sulfate (LESS) were analyzed for their antibacterial activity and ability to tissue dissolution, aiming to increase the safety of its use as an auxiliary chemical medium.

**METHODS:** From NaOCl 2,5%, 7 experimental gels of different concentrations were developed, with LESS as vehicle. For antimicrobial activity testing, was used the inhibition halos method on *E. faecalis*. For tissue dissolution, the total dissolution time for bovine tissue fragments in each formulation was observed.

Both tests were done in triplicate. **RESULTS:** The antibacterial activity of the gels did not differ statistically in any of the formulations. The tissue dissolution time presented significant differences when compared to the control (NaOCl 2.5%) for all the formulations tested. **CONCLUSIONS:** LESS is an alternative to be used as a NaOCl vehicle during root canal preparation, but a mechanism is needed to better tissue dissolution, such as the constant exchange and agitation of the solution, which can be achieved using the gel associated with the biomechanical preparation.

**Keywords:** Dental pulp. Dissolution. Sodium hypochlorite. Surfactant.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>12</b>
2.1	FORMULAÇÕES.....	12
2.2	TESTE MICROBIOLÓGICO.....	14
2.3	DISSOLUÇÃO TECIDUAL.....	15
2.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	17
<b>3</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>17</b>
3.1	TESTE MICROBIOLÓGICO.....	17
3.2	DISSOLUÇÃO TECIDUAL.....	18
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>22</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>23</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>26</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A complexidade anatômica dos canais radiculares impede que a instrumentação limpe todas as paredes dos condutos, podendo permanecer restos pulpare e bacterianos, camada residual (*smear layer*) formada durante o preparo e até mesmo bactérias organizadas na forma de biofilme, os quais representam obstáculos ao sucesso da terapia endodôntica. Assim, vê-se a necessidade da utilização de irrigantes com propriedades antibacterianas e de substâncias químicas auxiliares na desinfecção do sistema de canais radiculares<sup>1,2,3</sup>.

A procura por novas formulações, veículos e combinações de substâncias que aumentem o poder de combate às infecções endodônticas continua visando a obtenção de uma solução irrigadora ideal. Esta, deve apresentar baixa tensão superficial, atividade antimicrobiana, lubrificante e quelante, viscosidade, ter capacidade de dissolver matéria orgânica, promover suspensão de detritos e não apresentar efeitos citotóxicos para os tecidos perirradiculares, e sua escolha deve estar relacionada com a situação encontrada, para se obter melhores resultados quanto à limpeza e desinfecção<sup>4</sup>.

Quando se fala em substâncias irrigadoras e auxiliares permanecem no centro das atenções o hipoclorito de sódio (NaOCl), a clorexidina e o EDTA<sup>1,2,3</sup>, sendo o NaOCl recomendado como irrigante principal para o sistema de canais radiculares, representando a substância química mais utilizada e pesquisada, com a maior quantidade de evidências científicas disponíveis.

Dentre suas funções, o NaOCl apresenta ação lubrificante, arrastamento de debris e age sobre um amplo espectro de patógenos endodônticos. Além disso, é o único que contempla a capacidade de dissolver matéria orgânica, e por este motivo, continua a ser utilizado e incorporado às novas técnicas e protocolos de irrigação<sup>4,5,6</sup>.

A atividade antibacteriana do hipoclorito de sódio está relacionada à sua concentração. Quando utilizado em altas concentrações é capaz de eliminar, em menos de 30 segundos de exposição, patógenos endodônticos como *Enterococcus faecalis*, considerado o microrganismo mais prevalente em casos de insucesso endodôntico, sendo capaz de resistir aos tratamentos habituais como medicação intracanal e soluções irrigadoras<sup>7,8,9</sup>. Entretanto a utilização

dessas soluções mais concentradas exige cautela, devido à sua citotoxicidade pronunciada, característica que desperta grande preocupação quando se utiliza o NaOCl em Endodontia.

Por se tratar de um forte agente oxidante de ação inespecífica, a dissolução da matéria orgânica afeta tecidos contaminados e saudáveis se a solução entra em contato com a região perirradicular, podendo causar dor, edema, hematoma e necrose desses tecidos<sup>10,11,12</sup>. Opta-se, assim, por formulações de menor porcentagem como 1 e 2,5% para o uso durante o preparo biomecânico dos canais radiculares, pois preservam as características antimicrobianas e capacidade solvente de matéria orgânica, e garante uma menor citotoxicidade<sup>13</sup>.

Todas as soluções irrigadoras apresentam limitações. Um ponto negativo de extrema relevância do hipoclorito de sódio é a sua incapacidade de remover a porção inorgânica da *smear layer*, fazendo necessária a utilização de uma substância que atue na remoção desses resíduos. Por esse motivo é realizada a associação com substâncias quelantes como o EDTA, utilizado na lavagem final dos condutos após o preparo biomecânico com NaOCl<sup>14,15</sup>. Outras desvantagens são o cheiro e sabor desagradáveis, a capacidade de descolorir tecidos, poder corrosivo e potencial de causar reações alérgicas<sup>8,16</sup>.

À vista disso, há a possibilidade de otimizar o tratamento endodôntico através da busca de novas formulações, veículos e combinações de substâncias que atuem em sinergia, superando as limitações das soluções irrigadoras, diminuindo os riscos durante sua utilização e aumentando o poder de combate à infecção.

A utilização de uma formulação em gel para o NaOCl é uma alternativa para compensar em parte as limitações anteriormente mencionadas. Como esta ação é obtida em virtude da viscosidade do meio, é possível que a utilização de uma base em gel para o NaOCl resulte também em menor formação de *smear layer* e, por consequência, menor necessidade do uso de substâncias quelantes. Somado a isso, a substância auxiliar na forma de gel propicia uma melhor lubrificação das paredes do canal, minimizando riscos de fraturas dos instrumentos. Além disso, mantém as raspas de dentina em suspensão, evitando extravasamento de debris para o periápice.

Estudos comparativos utilizando substâncias irrigadoras na forma líquida ou em gel têm apresentado resultados diversos, sugerindo que o veículo não desempenha apenas a função de entregar o princípio ativo, sendo possível aprimorar a técnica e os resultados através desse componente.

A adição de tensoativos, ou surfactantes, ao NaOCl vem sendo explorada para aumentar sua viscosidade, visando melhorar sua ação como substância química auxiliar. Uma característica desses aditivos é sua capacidade de diminuir a tensão superficial de um meio no qual estão dissolvidas.

O lauril éter sulfato de sódio (LESS), amplamente utilizado como agente de limpeza, emulsificante, estabilizante, solubilizante eficiente e barato em produtos de higiene para bebês, produtos de banho, higiene oral, maquiagens, produtos para cabelos, entre tantos outros<sup>17</sup>, já é conhecido na Endodontia, sendo utilizado em associação com o EDTA ou como substância principal para auxiliar a instrumentação. Assim, sendo possível utilizá-lo como veículo para NaOCl, visando a aumentar a segurança do uso deste como meio químico auxiliar.

Partindo do acima exposto, a presente pesquisa analisou géis de NaOCl 2,5% desenvolvidos com diferentes concentrações de LESS, quanto a manutenção da sua atividade antibacteriana e dissolução tecidual.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

A manipulação da formulação de hipoclorito de sódio em gel foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Tensoativos, no Instituto de Química do Campus central da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

As análises microbiológicas e de dissolução tecidual foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, localizado no município de Natal-RN.

### **2.1 FORMULAÇÕES**

A partir de hipoclorito de sódio 2,5% foram desenvolvidos géis experimentais de diversas concentrações, tendo como veículo o LESS. Para

conhecimento, Hipoclorito de sódio concentrado 10 a 12% (Hidroglass equipamentos e produtos químicos, Natal, RN) e Lauril éter sulfato de sódio em solução a 27% (distribuído por Tebras, Salto, SP, envasado por Indústrias Natal, Parnamirim, RN).

As formulações foram obtidas mantendo fixa a concentração do NaOCl 2,5% e variando a concentração de LESS, sendo escolhidas: 2,0%; 2,5%; 3,0%; 3,5%; 4,0%; 4,5% e 5,0%. Inicialmente preparou-se uma solução em estoque de hipoclorito de sódio a 2,5% a partir da diluição da solução concentrada. Em seguida foram feitas sete diluições a partir da solução de LESS 27% com o intuito de obter soluções com as concentrações: 4,0%; 5,0%; 6,0%; 7,0%; 8,0%; 9,0% e 10%. Em Erlenmeyer de 250mL foram homogeneizados volumes iguais das amostras de NaOCl e LESS, de forma a atingir as concentrações finais desejadas. As formulações foram agitadas por inversão e deixadas em repouso por 48 horas, após esse período elas já se apresentavam sem bolhas de ar, com transparência e aspecto gelatinoso.

Ao fim da etapa de preparo, as formulações foram armazenadas ao abrigo da luz e calor, em tubos falcon envoltos por papel alumínio por 48h antes de serem submetidas aos testes microbiológico e de dissolução tecidual (**Figura 1**).



**Figura 1.** Géis de NaOCl com LESS nas diversas formulações (%). Fonte: Arquivo pessoal.

## 2.2 TESTE MICROBIOLÓGICO

Os géis foram inicialmente submetidos a teste de difusão em placas de ágar para verificação de inibição do crescimento microbiano, confirmando assim, que foi conservado o cloro ativo e capacidade bactericida das formulações.

Em seguida, foram preparadas placas de Petri, previamente esterilizadas, com meio de cultura BHI ágar. Após a solidificação do ágar, as placas foram mantidas em estufa microbiológica a 37°C por 48h para verificação da esterilidade do meio.

O microrganismo utilizado no teste foi o *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Inicialmente foi executada a técnica de repicagem: em um tubo de ensaio com 5 mL de solução fisiológica estéril foram semeados os microrganismos (**Figura 2**), produzindo um inócuo que foi padronizado de acordo com a escala McFarland 1, correspondente à concentração 3x10<sup>8</sup> UFC/mL, e semeado em duas placas de BHI ágar para comprovar a “pureza” da cultura. As suspensões microbianas foram inoculadas em cada placa, com auxílio de alça de platina, em três sentidos: horizontal, vertical e diagonal (**Figura 3**).

Foi produzido novo inócuo a partir das placas semeadas na etapa anterior. Em novas placas de BHI ágar, estéreis, de 100mm de diâmetro, 3mm de espessura de BHI ágar, foi realizada a técnica de semeadura de superfície. Com o auxílio de uma pipeta foram depositados 100µL da suspensão microbiana sobre cada placa de BHI ágar. A suspensão foi cuidadosamente espalhada por toda a superfície, em todas as direções, com auxílio de alça de drigalski de vidro. Dessa forma foram produzidas seis placas contaminadas por *E. faecalis* (**Figura 4**).

Foram utilizados discos de papel estéreis com 6mm de diâmetro embebidos com os géis experimentais e com os controles, sendo estes: soro, controle negativo e hipoclorito de sódio 2,5%, controle positivo. Os discos embebidos nas formulações foram posicionados nas placas contaminadas com o microrganismo. Estas foram incubadas a 37°C, por 48 horas. Para cada substância testada foram realizadas três repetições (**Figura 5**).



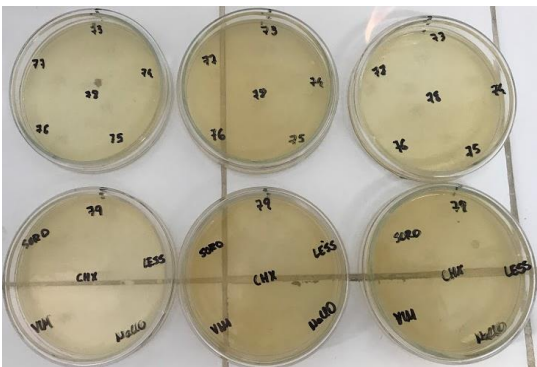
A mensuração dos halos de inibição do crescimento bacteriano foi realizada por um único examinador, experiente e treinado, com o auxílio de paquímetro digital.



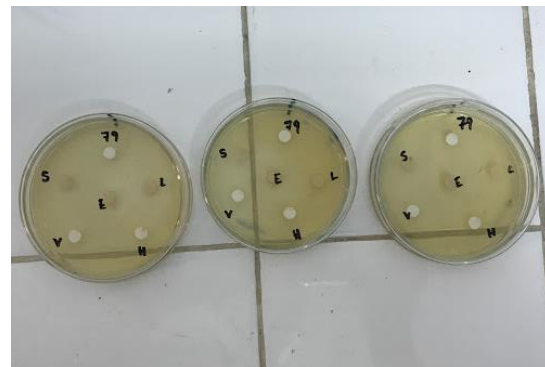
**Figura 2.** Preparação da suspensão de *Enterococcus faecalis* em solução salina estéril. Fonte: Arquivo pessoal.



**Figura 3.** Semeadura de placa estéril de BHI ágar com alça de platina. Fonte: Arquivo pessoal.



**Figura 4.** Placas de BHI ágar semeadas com *E. faecalis*. As placas foram sinalizadas quanto à formulação testada em cada campo e produzidas para experimento em triplicata. Fonte: Arquivo pessoal.



**Figura 5.** Disposição dos discos nas placas de petri. Fonte: Arquivo pessoal.

### 2.3 DISSOLUÇÃO TECIDUAL

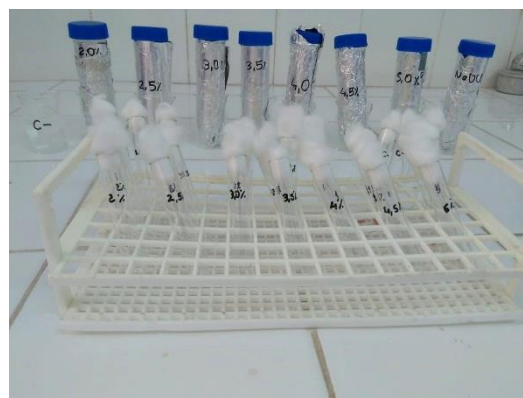
Fragmentos de carne bovina, foram cortados e pesados, em balança eletrônica de precisão (marca), estabelecendo o peso de 0,02g (**Figura 6**). Estes foram acondicionados individualmente em tubos de ensaio, à temperatura ambiente. O teste foi realizado em triplicata para cada grupo experimental, totalizando o total de 27 frascos, que foram identificados de acordo com a substância a ser testada, tendo como controle positivo o

Hipoclorito de sódio 2,5% e, como controle negativo, a água destilada (**Figura 7**).

Em cada tubo de ensaio contendo o fragmento tecidual pesado, foram adicionados 3 mL de gel ou controles com uso de pipeta volumétrica (**Figura 8**). A partir do momento de primeiro contato dos fragmentos com as soluções marcou-se o tempo zero (tempo inicial de dissolução), sendo os frascos agitados a cada 1 hora. Para cada amostra foi observado o tempo necessário para total dissolução, para posterior comparação de efetividade de dissolução com o controle positivo.



**Figura 6.** Cortes teciduais padronizados em balança de precisão com peso de 0,02g. *Fonte: Arquivo pessoal.*



**Figura 7.** Tubos de ensaio distribuídos em triplicata para cada formulação a ser testada. *Fonte: Arquivo pessoal.*



**Figura 8.** Cortes teciduais distribuídos nos tubos de ensaio imergidos na formulação identificada. *Fonte: Arquivo pessoal.*

## 2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes aos diâmetros dos halos de inibição foram tabulados em banco de dados no programa IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS Statistics para Windows, versão 22.0, Armonk, Nova York, Estados Unidos). Foi verificada a normalidade das amostras, calculadas as médias dos grupos, constituídos pelas diferentes formulações. Para as amostras que apresentaram distribuição normal foi realizada análise de variância (ANOVA), com pós-teste de Tukey. Para as amostras que tiveram distribuição que não atende à normalidade foi realizado teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn.

Para análise de significância da dissolução tecidual de cada gel, o tempo de dissolução de cada amostra foi transformado em minutos e realizada a média e desvio padrão para as triplicatas em cada formulação. A partir disso, foi realizada análise de variância (ANOVA), utilizando o Teste T de comparações múltiplas, com 0,05 de significância.

## 3 RESULTADOS

### 3.1 TESTE MICROBIOLÓGICO

Podemos observar na **Tabela 1** que todos os grupos, exceto o soro, demonstraram ação antibacteriana. Foi realizado o teste paramétrico Anova *One Away* que revelou presença de diferença estatística entre pelo menos um dos grupos ( $p < 0,05$ ), representados pelas letras diferentes na tabela 5. Podemos observar valores médios dos halos de inibição muito próximos, com uma pequena queda com o gel de NaOCl 2,5% com as concentrações de tensoativo de 3,0% e 3,5%. Desta forma, podemos dispor a seguinte ordem decrescente da ação: Solução aquosa NaOCl 2,5%; NaOCl 2,5% + LESS 2,0%; NaOCl 2,5% + LESS 4,0%; NaOCl 2,5% + LESS 5,0%; NaOCl 2,5% + LESS 2,5%; NaOCl 2,5% + LESS 3,0% e NaOCl 2,5% + LESS 3,5%.

**Tabela 1.** Médias e desvio padrão dos diâmetros dos halos de inibição formados no teste de disco-difusão em ágar com *Enterococcus faecalis* (em milímetros).

Formulação	Média	Desvio Padrão
Solução aquosa NaOCl 2,5%	20,75 <sup>a</sup>	1,60
NaOCl 2,5% + LESS 2,0%	20,03 <sup>ab</sup>	2,39
NaOCl 2,5% + LESS 2,5%	17,43 <sup>ac</sup>	4,48
NaOCl 2,5% + LESS 3,0%	15,10 <sup>bc</sup>	0,70
NaOCl 2,5% + LESS 3,5%	15,00 <sup>c</sup>	0,70
NaOCl 2,5% + LESS 4,0%	18,90 <sup>a</sup>	1,35
NaOCl 2,5% + LESS 4,5%	17,10 <sup>ac</sup>	0,10
NaOCl 2,5% + LESS 5,0%	18,70 <sup>a</sup>	1,95

Letras iguais indicam ausência de diferença estatística ( $p > 0,05$ ). Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.2 DISSOLUÇÃO TECIDUAL

Foram analisados os tempos de dissolução tecidual das 7 diferentes concentrações de LESS em gel de NaOCl 2,5%, junto ao controle positivo de NaOCl 2,5%. O tempo final dissolução para cada amostra foi convertido em minutos a partir do tempo 0 de contato do fragmento tecidual com cada formulação. A média e o desvio padrão obtidos a partir dos resultados em triplicata para cada gel, está expresso **Tabela 2**.

Os valores foram comparados estatisticamente por meio do teste T de comparações múltiplas, com significância de  $p > 0,05$  e todas as formulações testadas apresentaram diferenças estatísticas quando comparadas ao controle positivo. Podemos observar que a solução aquosa de NaOCl teve melhores resultados em relação aos demais ( $p < 0,05$ ). Houve um aumento no tempo de dissolução tecidual, sendo este crescente à medida que aumentou a concentração do LESS (**Tabela 2**).

**Tabela 2.** Média e desvio padrão do tempo (minutos) de dissolução tecidual.

Formulação	Média	Desvio Padrão
Solução aquosa NaOCl 2,5%	56,33 <sup>a</sup>	5,00
NaOCl 2,5% + LESS 2,0%	175,00 <sup>b</sup>	5,77
NaOCl 2,5% + LESS 2,5%	171,33 <sup>b</sup>	16,77
NaOCl 2,5% + LESS 3,0%	217,66 <sup>c</sup>	15,62
NaOCl 2,5% + LESS 3,5%	225,00 <sup>c</sup>	23,50
NaOCl 2,5% + LESS 4,0%	253,33 <sup>c</sup>	22,50
NaOCl 2,5% + LESS 4,5%	252,33 <sup>c</sup>	2,52
NaOCl 2,5% + LESS 5,0%	344,33 <sup>d</sup>	2,89

Letras iguais indicam ausência de diferença estatística ( $p > 0,05$ ). Fonte: Dados da pesquisa.

#### 4 DISCUSSÃO

Visando superar as desvantagens do NaOCl em seu uso no tratamento endodôntico, buscamos criar uma nova formulação em gel, a partir da adição de LESS em diversas concentrações, almejando uma diminuição da tensão superficial e aumento da viscosidade, para redução do risco de contato da solução com o ápice, evitando sua citotoxicidade, assim como a manutenção das raspas de dentina em suspensão, além de alcançar uma menor formação de *smear layer*, para diminuir a necessidade do uso de substâncias quelantes. Somado a isso, propiciar uma melhor lubrificação das paredes do canal, minimizando os riscos de fraturas de instrumentos.

A escolha de LESS como tensoativo se deu pois este já é conhecido na Endodontia, com o nome comercial de Tergentol, utilizado em associação com o EDTA (EDTA-T, Fórmula e Ação, São Paulo), ou como substância principal para auxiliar a instrumentação (Tergenform, Fórmula e Ação, São Paulo). Apesar dos benefícios que a adição de um surfactante pode trazer, as possíveis interações que este pode ter com a solução e os tecidos, pode trazer alterações negativas aos resultados já conhecidos do NaOCl, assim, analisamos a ação antibacteriana e capacidade de dissolução pulpar das diversas formulações, para avaliar sua efetividade na irrigação pulpar.

Com relação ao efeito antibacteriano, os resultados comprovaram a manutenção desta propriedade do NaOCl independente da concentração do LESS. Os halos de inibição formados para cada gel foram praticamente

equivalentes, inclusive com o controle (NaOCl 2,5%). Tais resultados indicam que não ocorre uma reação química entre o NaOCl e o LESS que prejudique a ação antimicrobiana. Desta forma, o uso de agentes que promovam a redução da tensão superficial pode aumentar a eficácia bacteriana dos irrigantes endodônticos<sup>18</sup>, o que é comprovado por estudos que utilizaram diferentes formulações com adição de outros tensoativos<sup>18,19</sup>. Assim, pode-se considerar que o uso de LESS para conferir ao NaOCl a forma de gel, mantem a eficaz propriedade antibacteriana, independente da concentração de LESS utilizada.

Além da importante ação antimicrobiana, uma das grandes vantagens no uso do NaOCl é sua capacidade de dissolver matéria orgânica, a qual está relacionada com sua concentração, pH, temperatura da solução e a agitação mecânica<sup>20</sup>. Ao se adicionar um componente à solução, algumas propriedades podem ser alteradas devido às novas interações.

Em nosso estudo, analisamos a capacidade de dissolução tecidual dos géis nas 7 formulações testadas, comparando-as a solução líquida de NaOCl 2,5%. Optou-se pelo uso de tecido bovino devido sua facilidade de acesso e dificuldade de obtenção de tecido pulpar propriamente dito, além de possibilitar maior quantidade de tecido para pesquisa. O uso de tecido pulpar humano seria ideal, porém, além da dificuldade de acesso, resultaria em uma pequena quantidade de tecido que dificultaria a padronização das amostras teciduais<sup>21</sup>. Além disso, há uma grande variação na aparência histológica das polpas, subsequentemente, o tecido pulpar de diferentes dentes pode ser diferente, adicionando assim uma fonte potencial de viés<sup>22</sup>.

Todos as soluções experimentadas apresentaram significativa alteração no tempo de dissolução quando comparada ao controle. Foi observado que a solução aquosa de NaOCl dissolveu todo o tecido em menos de uma hora, enquanto os grupos em gel superaram 2 horas para total dissolução.

Várias pesquisas vêm sendo realizadas para testar a capacidade de dissolução tecidual de hipoclorito de sódio associado a tensoativos, porém poucos usam o lauril éter sulfato de sódio para tal propósito.

Um estudo avaliou a dissolução da mucosa palatina de porco pelo NaOCl e NaOCl associado a uma solução de ácido glicólico e outros surfactantes e observaram que a associação com surfactantes aumenta a

penetração intracanal, mas não a dissolução de tecido em si, não se obtendo dissolução total de nenhuma amostra<sup>23</sup>.

Outro estudo, combinou a adição do surfactante com a agitação por ultrassom e identificou que houve aumento da dissolução tecidual, no entanto, não foram encontradas diferenças significativas quando comparamos as diferentes soluções de NaOCl com 30 segundos de agitação com PUI (passive ultrasonic irrigation)<sup>22</sup>.

Alguns desses estudos apontam que a adição de surfactantes ao meio não parece influenciar na capacidade de dissolução pulpar<sup>22,23,24</sup>, o que difere de nossa pesquisa em que todas as concentrações apresentaram disparidade de tempo significativa.

De todos os estudos encontrados apenas Barbin (1999) utilizou o LESS como tensoativo. Confirmando nossos achados, constatou que a adição de LESS nas soluções de NaOCl retarda o processo de dissolução pulpar, dando como possíveis explicações que uma reação química entre a solução de NaOCl e o lauril poderia ocorrer reduzindo a capacidade de dissolução, além da produção de bolhas de ar pelo tensoativo, que também reduziria a superfície de contato entre a solução e o tecido.

Assim como visto em nossos resultados, quanto maior a proporção de LESS adicionada ao NaOCl, maior o tempo de dissolução. Uma explicação para tal seria que um excesso de tensoativo desvia o equilíbrio químico dinâmico da reação de saponificação e/ou que uma reação química entre a solução de NaOCl e o lauril poderia ocorrer reduzindo a capacidade de dissolução<sup>25</sup>. No entanto, estudos prévios realizados pelo nosso grupo de pesquisa comprovou não ocorrer uma reação química entre o NaOCl e o lauril.

A variação nos resultados obtidos para dissolução, que expôs que quanto maior a concentração de LESS, maior o tempo de dissolução, pode ter relação com a diferença na quantidade e no tipo de surfactante incluído nas soluções utilizadas, levando a disparidade dos resultados desse e dos outros estudos<sup>24</sup>.

Outras diferenças na composição da solução de NaOCl, como pH, temperatura e conteúdo de NaOCl, também podem afetar a capacidade de dissolução do tecido dessas soluções<sup>24</sup>. Barbin (1999) expôs que a adição de

tensoativos não alteraram o grau de redução de pH, mas promoveu a redução da tensão superficial, como esperado.

Para alcançar melhores resultados pode-se intervir em outras características que irão melhorar essa dissolução. Visando melhorar a efetividade da solução irrigadora com adição de LESS pode ser viável usar o gel em constante agitação, já que estudos apontam que a renovação da solução de hipoclorito no local da dissolução por agitação, preferencialmente contínua, resulta em um aumento acentuado do efeito da solução<sup>21</sup>, essa agitação pode ser realizada como mecanismos como o PUI<sup>22</sup>. Desta forma, acreditamos que utilizando o gel durante o preparo biomecânico, ou seja, a sua renovação constante associada à ação mecânica dos instrumentos, diminuirá o tempo de dissolução dos tecidos orgânicos.

## **5 CONCLUSÕES**

O lauril éter sulfato de sódio é uma alternativa de veículo para formulações de NaOCl em gel a serem utilizadas durante o preparo do canal radicular, não interferindo na sua capacidade antibacteriana, aumentando o tempo de dissolução tecidual, porém proporcionando maior segurança com relação à riscos de extravasamento.



## REFERÊNCIAS

1. Darcey J, Jawad S, Taylor C, Roudsari RV, Hunter M. Modern endodontic principles part 4: irrigation. *Dent Update*. 2016;43(1):33-20.
2. Plotino G, Cortese T, Grande NM, Leonardi DP, Di Giorgio G, Testarelli L, et al. New technologies to improve root canal disinfection. *Braz Dent J*. 2016;27(1):8-3.
3. Rôças IN, Provenzano JC, Neves MA, Siqueira Jr JF. Disinfecting effects of rotary instrumentation with either 2.5% sodium hypochlorite or 2% chlorhexidine as the main irrigant: a randomized clinical study. *J Endod*. 2016;42(6):947-943.
4. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod*. 2006;32(5):398-389.
5. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J*. 2014;216(6):303-299.
6. Ajeti NN, Pustina-Krasniqi T, Apostolska S. The Effect of Gaseous Ozone in Infected Root Canal. *Open Access Maced J Med Sci*. 2018;6(2):396-389.
7. Mickel AK, Nguyen TH, Chogle S. Antimicrobial activity of endodontic sealers on *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2003;29(4):258-257.
8. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2001;34(6):428-424.
9. Vianna ME, Gomes BP, 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(1):84-79.
10. Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LAB, Anibal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *Int Endod J*. 2002;35(9):739-735.
11. Gernhardt CR, Eppendorf K, Kozlowski A, Brandt M. Toxicity of concentrated sodium hypochlorite used as an endodontic irrigant. *International Endodontic Journal* 2004;37(4):280-272.
12. Zhu WC, Gyamfi J, Niu LN, Schoeffel GJ, Liu SY, Santarcangelo F et al. Anatomy of sodium hypochlorite accidents involving facial ecchymosis - a review. *J Dent*. 2013;41(11):948-935.
13. Câmara AC, Albuquerque MM, Aguiar CM. Soluções irrigadoras utilizadas para o preparo biomecânico de canais radiculares. *Pesq Bras Odontopediatria Clín Integr* 2010;10(1):127-133.

14. Görduysus M, Küçükkaya S, Bayramgil NP, Görduysus MÖ. Evaluation of the effects of two novel irrigants on intraradicular dentine erosion, debris and smear layer removal. *Restor Dent Endod*. 2015;40(3):222-216.
15. Wang Z, Maezono H, Shen Y, Haapasalo M. Evaluation of root canal dentin erosion after different irrigation methods using energy-dispersive X-ray spectroscopy. *J Endod*. 2016;42(12):1839-1834.
16. Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. *J Endod*. 1985;11(12):528-525.
17. Robinson VC, Bergfeld WF, Belsito DV, Hill RA, Klaassen CD, Marks JG et al. Final report of the amended safety assessment of sodium laureth sulfate and related salts of sulfated ethoxylated alcohols. *Int J Toxicol* 2010;29(Suppl4):151S-161S.
18. Wang Z, Shen Y, Ma J, Haapasalo M. The effect of detergents on the antibacterial activity of disinfecting solutions in dentin. *J Endod*. 2012;38(7):948-953.
19. Baron A, Lindsey K, Sidow SJ, Dickinson D, Chuang A, McPherson JC. Effect of a benzalkonium chloride surfactant–sodium hypochlorite combination on elimination of *Enterococcus faecalis*. *Journal of endodontics* 2016;42(1):145-149.
20. Pitome AW, Cruz ATG, Heck AR, Faria MIA, Aragão EM. Avaliação da capacidade de dissolução de tecido pulpar bovino pelo hipoclorito de sódio em diferentes concentrações. *Rev Odontol UNESP* 2015;44(6):354-351.
21. Stojcic S, Zivkovic S, Qian W, Zhang H, Haapasalo M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. *J Endod*. 2010;36(9):1562-1558.
22. Estevez R, Conde AJ, de Pablo OV, de la Torre F, Rossi-Fedele G, Cisneros R. Effect of passive ultrasonic activation on organic tissue dissolution from simulated grooves in root canals using sodium hypochlorite with or without surfactants and EDTA. *J Endod*. 2017;43(7):1165-1161.
23. López AP, Conde AJ, Estevez R, de Pablo OV, Rossi-Fedele G, Cisneros R. Sodium Hypochlorite and a Preparation Containing Glycocholic Acid and Surfactants Have a Synergistic Action on Organic Tissue Dissolution In Vitro. *J Endod* 2018;44(5):815-813.
24. Clarkson RM, Moule AJ, Podlich H, Kellaway R, Macfarlane R, Lewis D et al. Dissolution of porcine incisor pulps in sodium hypochlorite solutions of varying compositions and concentrations. *Aust Dent J* 2006;51(3):251-245.
25. Barbin EL. Estudo in vitro do efeito da adição de lauril dietilenoglicol éter sulfato de sódio nas soluções de hipoclorito de sódio sobre suas propriedades

físico-químicas anteriores e posteriores à dissolução do tecido pulpar bovino. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1999.

## ANEXOS

### ANEXO I- Normas para publicação em Dental Press Endodontics

O Dental Press Endodontics publica artigos de investigação científica, revisões significativas, relatos de casos clínicos e de técnicas, comunicações breves e outros materiais relacionados à Endodontia, tendo a missão de difundir os avanços científicos e tecnológicos nessa área, que contribuam significativamente à comunidade de pesquisadores em níveis local, regional e internacional, visando à publicação da produção técnico-científica, relacionada à saúde e, especialmente, à Endodontia. — O Dental Press Endodontics utiliza o GNPapers, um sistema on-line de submissão e avaliação de trabalhos. Para submeter novos trabalhos visite o site: [www.dentalpressjournals.com.br](http://www.dentalpressjournals.com.br) — Outros tipos de correspondência poderão ser enviados para: Dental Press International Av. Dr. Luiz Teixeira Mendes, 2.712 - Zona 5 CEP 87.015-001, Maringá/PR Tel.: (44) 3033-9818 E-mail: [artigos@dentalpress.com.br](mailto:artigos@dentalpress.com.br) — As declarações e opiniões expressas pelo(s) autor(es) não necessariamente correspondem às do(s) editor(es) ou publisher, os quais não assumirão qualquer responsabilidade pelas mesmas. Nem o(s) editor(es) nem o publisher garantem ou endossam qualquer produto ou serviço anunciado nessa publicação ou alegação feita por seus respectivos fabricantes. Cada leitor deve determinar se deve agir conforme as informações contidas nessa publicação. A Revista ou as empresas patrocinadoras não serão responsáveis por qualquer dano advindo da publicação de informações errôneas. — Os trabalhos apresentados devem ser inéditos e não publicados ou submetidos para publicação em outra revista. Os manuscritos serão analisados pelo editor e consultores, e estão sujeitos a revisão editorial. Os autores devem seguir as orientações descritas a seguir.

**ORIENTAÇÕES PARA SUBMISSÃO DOS MANUSCRITOS** — Os trabalhos devem, preferencialmente, ser escritos em língua inglesa. — Apesar de ser oficialmente publicado em inglês, o Dental Press Endodontics conta ainda com uma versão em língua portuguesa. Por isso serão aceitas, também, submissões de artigos em português. — Nesse caso, os autores deverão também enviar a versão em inglês do artigo, com qualidade vernacular adequada e conteúdo idêntico ao da versão em português, para que o trabalho possa ser considerado aprovado.

**FORMATAÇÃO DOS MANUSCRITOS** — Submeta os artigos usando o website: [www.dentalpressjournals.com.br](http://www.dentalpressjournals.com.br) — Organize sua apresentação como descrito a seguir.

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

2. Página de título — deve conter título em português e em inglês, resumo e abstract, palavras-chave e keywords. — não devem ser incluídas informações relativas à identificação dos autores (por exemplo: nomes completos dos autores, títulos acadêmicos, afiliações institucionais e/ou cargos administrativos). Elas deverão ser incluídas apenas nos campos específicos no site de submissão de artigos. Assim, essas informações não estarão disponíveis para os revisores.

3. Resumo/Abstract — os resumos estruturados, em português e inglês, de 250 palavras ou menos são os preferidos. — os resumos estruturados devem conter as seções: INTRODUÇÃO, com a proposição do estudo; MÉTODOS, descrevendo como o mesmo foi realizado; RESULTADOS, descrevendo os resultados primários; e CONCLUSÕES, relatando, além das conclusões do estudo, as implicações clínicas dos resultados. — os resumos devem ser acompanhados de 3 a 5 palavras-chave, também em português e em inglês, adequadas conforme orientações do DeCS (<http://decs.bvs.br/>) e do MeSH ([www.nlm.nih.gov/mesh](http://www.nlm.nih.gov/mesh)).

4. Texto — o texto deve ser organizado nas seguintes seções: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Referências, e Legendas das figuras. — os textos devem ter no máximo 3.500 palavras, incluindo legendas das figuras e das tabelas (sem contar os dados das tabelas), resumo, abstract e referências. — as figuras devem ser enviadas em arquivos separados (leia mais abaixo). — insira as legendas das figuras também no corpo do texto, para orientar a montagem final do artigo.

5. Figuras — as imagens digitais devem ser no formato JPG ou PNG, em RGB ou tons de cinza, com pelo menos 7 cm de largura e 300 DPIs de resolução. — devem ser enviadas em arquivos independentes. — se uma figura já foi publicada anteriormente, sua legenda deve dar todo o crédito à fonte original. — todas as figuras devem ser citadas no texto.

6. Gráficos e traçados cefalométricos — devem ser citados, no texto, como figuras. — devem ser enviados os arquivos que contêm as versões originais dos gráficos e traçados, nos programas que foram utilizados para sua confecção. — não é recomendado o envio dos mesmos apenas em formato de imagem bitmap (não editável). © 2018 Dental Press Endodontics 91 Dental Press Endod. 2018 Sept-Dec;8(3):90-2 Normas de apresentação de originais — os desenhos enviados podem ser melhorados ou redesenhados pela produção da revista, a critério do Corpo Editorial.

7. Tabelas — as tabelas devem ser autoexplicativas e devem complementar, e não duplicar, o texto. — devem ser numeradas com algarismos arábicos, na ordem em que são mencionadas no texto. — forneça um breve título para cada tabela. — se uma tabela tiver sido publicada anteriormente, inclua uma nota de rodapé dando crédito à fonte original. — apresente as tabelas como arquivo de texto (Word ou Excel, por exemplo), e não como elemento gráfico (imagem não editável).

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

9. Declarações exigidas Todos os manuscritos devem ser acompanhados das seguintes declarações: — Cessão de Direitos Autorais Transferindo os direitos autorais do manuscrito para a Dental Press, caso o trabalho seja publicado. — Conflito de Interesse Caso exista qualquer tipo de interesse dos autores para com o objeto de pesquisa do trabalho, esse deve ser explicitado. — Proteção aos Direitos Humanos e de Animais Caso se aplique, informar o cumprimento das recomendações dos organismos internacionais de proteção e da Declaração de Helsinki, acatando os padrões éticos do comitê responsável por experimentação humana/animal. — Permissão para uso de imagens protegidas por direitos autorais Ilustrações ou tabelas originais, ou modificadas, de material com direitos autorais devem vir acompanhadas da permissão de uso pelos proprietários desses direitos e pelo autor original (e a legenda deve dar corretamente o crédito à fonte). — Consentimento Informado Os pacientes têm direito à privacidade que não deve ser violada sem um consentimento informado. Fotografias de pessoas identificáveis devem vir acompanhadas por uma autorização assinada pela pessoa ou pelos pais ou responsáveis, no caso de menores de idade. Essas autorizações devem ser guardadas indefinidamente pelo autor responsável pelo artigo. Deve ser enviada folha de rosto atestando o fato de que todas as autorizações dos pacientes foram obtidas e estão em posse do autor correspondente.

10. Referências — todos os artigos citados no texto devem constar na lista de referências. — todas as referências devem ser citadas no texto. — para facilitar a leitura, as referências serão citadas no texto apenas indicando a sua numeração. — as referências devem ser identificadas no texto por números arábicos sobrescritos e numeradas na ordem em que são citadas. — as abreviações dos títulos dos periódicos devem ser normalizadas de acordo com as publicações “Index Medicus” e “Index to Dental Literature”. — a exatidão das referências é responsabilidade dos autores e elas devem conter todos os dados necessários para sua identificação. — as referências devem ser apresentadas no final do texto obedecendo às Normas Vancouver ([http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)). — utilize os exemplos a seguir:

Artigos com até seis autores Vier FV, Figueiredo JAP. Prevalence of different periapical lesions associated with human teeth and their correlation with the presence and extension of apical external root resorption. *Int Endod J* 2002;35:710-9.

Artigos com mais de seis autores De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*. 2005 Feb;84(2):118-32.

Capítulo de livro Nair PNR. Biology and pathology of apical periodontitis. In: Estrela C. Endodontic Science. São Paulo: Artes Médicas; 2009. v. 1. p. 285-348.

Capítulo de livro com editor Breedlove GK, Schorfheide AM. Adolescent pregnancy. 2nd ed. Wieczorek RR, editor. White Plains (NY): March of Dimes Education Services; 2001.

Dissertação, tese e trabalho de conclusão de curso Debelian GJ. Bacteremia and Fungemia in patients undergoing endodontic therapy. [Thesis]. Oslo - Norway: University of Oslo, 1997.

Formato eletrônico Câmara CALP. Estética em Ortodontia: Diagramas de Referências Estéticas Dentárias (DRED) e Faciais (DREF). Rev Dental Press Ortod Ortop Facial. 2006 nov-dez;11(6):130-56. [Acesso 12 jun 2008]. Disponível em: [www.scielo.br/pdf/dpress/v11n6/a15v11n6.pdf](http://www.scielo.br/pdf/dpress/v11n6/a15v11n6.pdf)