



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ANÁLISE MICROBIANA DOS CONES DE GUTA-PERCHA NA
CLÍNICA DENTÁRIA EGAS MONIZ**

Trabalho submetido por
Fabiano Labarba Barbosa
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2021



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ANÁLISE MICROBIANA DOS CONES DE GUTA-PERCHA NA
CLÍNICA DENTÁRIA EGAS MONIZ**

Trabalho submetido por
Fabiano Labarba Barbosa
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor João Dias

setembro de 2021

DEDICATÓRIA

À minha esposa, Gabrielle, e meus filhos Kenai e Yuri, a quem peço desculpa pela ausência, obrigado que pelo carinho, paciência, compreensão pelo amor e felicidade entre nós, sendo esses o principal motivo de minha felicidade, meu porto seguro.

Ao meu pai, Edson (*in memoriam*), e ao meu sogro Octacílio (*in memoriam*), que me ensinaram a dignidade e o valor dos estudos, e ainda a importância de correr sempre atrás dos meus objetivos, no pouco espaço de tempo que convivemos juntos.

À minha mãe, Lucia e à minha irmã Luciana, como exemplos de garra, pelo seu amor eterno e extrema dedicação.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Doutor João Dias, que me fez encarar um desafio muito gratificante, pois ajudou-me a superar dificuldades, orientando-me na definição de um caminho sólido e crescente na minha profissão, bem como no desenvolvimento deste trabalho, aceitando orientá-lo.

À Prof.^a Doutora M^a Helena Barroso, pela sua disponibilidade e dedicação, que constituíram importantes contributos para o trabalho desenvolvido na área laboratorial.

A todos os Professores do Instituto Universitário Egas Moniz que fizeram parte desta nova caminhada, e aos funcionários do Instituto Universitário Egas Moniz, que são a engrenagem fundamental para o bom funcionamento do corpo como um todo, em especial à funcionária da limpeza, Sr.^a Ana, bem como à Sr.^a Alexandra, da farmácia, que com alegria contagiante e simpatia ajudavam a recarregar minhas energias para mais um dia.

A Deus, pois sem ele nada seria possível, obrigado por me apoiar até aqui, e sempre.

Aos pacientes, pela motivação para o avanço na busca do conhecimento e da prática.

Ao amigo Dr. Rodrigo Lopes principal incentivador desta nova trajetória, e aos meus colegas de curso, em especial ao Tiago Ribeiro, pela parceria nos semestres anteriores, grande fruto de verdadeira amizade, à Camila Lameira e à Inês Alves, no último ano, pelo grande apoio como colegas de *box*.

“Todos os nossos sonhos podem-se realizar, se tivermos a coragem de persegui-los”.

Walt Disney

RESUMO

Objetivos: O propósito da investigação é avaliar a possibilidade de contaminação microbiana de cones de guta-percha retirados de uma caixa nova e em caixas em utilização, na clínica Dentária do Instituto Universitário Superior Egas Moniz (IUEM), verificando-se a possibilidade de existência de contaminação dos cones com *Enterococcus faecalis* após a manipulação dos referidos cones.

Materiais e Métodos: Inicialmente foram utilizadas 10 caixas de cones de guta-percha intactas de onde foram extraídos aleatoriamente 3 cones de cada uma delas perfazendo um total de 30 cones. As mesmas caixas foram colocadas em utilização, por um período de 30 dias. Após os 30 dias, as caixas selecionadas inicialmente foram recolhidas e retirados mais 30 cones para posterior análise. Foram, ainda, recolhidos mais 03 cones de uma outra caixa de guta-percha utilizada para reposição de cones, procedimento realizado como protocolo habitual de reposição de guta-percha em caixas que se encontre vazia, na clínica dentária do IUEM. No total foram recolhidos 63 cones de guta-percha retirados de 11 caixas.

Resultado: Na investigação das 63 amostras dos cones de guta-percha, observou-se que apenas 3%, isto é, 02 amostras, demonstraram crescimento de micro-organismos, uma em cada fase. No entanto, de acordo com o resultado do teste de catalase, constatou-se que não eram *Enterococcus faecalis*.

Conclusões: A possibilidade da contaminação microbiana de cones de guta-percha, retirados de caixas novas intactas e em cones provenientes de caixas em utilização é muito reduzida. Foi demonstrado que 97% da amostra apresentou estar isento de crescimento de micro-organismo. Dos 3% das amostras que apresentaram crescimento bacteriano retiradas das caixas, o número de colónias encontrado foi inferior quando comparado com o das caixas novas, constatou-se que não eram *Enterococcus faecalis*. Foi possível concluir existir eficácia no protocolo de prevenção da contaminação cruzada em utilização atual na Clínica do IUEM.

Palavras – Chaves: Guta-percha, infeções endodônticas secundárias, *Enterococcus faecalis*, infeção cruzada.

ABSTRACT

Objectives: The purpose of the investigation is to evaluate the possibility of microbial contamination of gutta-percha cones removed from a new box and in boxes in use, at the Dental Clinic of the Instituto Universitário Superior Egas Moniz (IUEM), checking the possibility of contamination. of cones with *Enterococcus faecalis* after manipulation of said cones.

Materials and methods Initially, 10 boxes of intact gutta-percha cones were used, from which 3 cones were randomly extracted from each one of them, making a total of 30 cones. The same boxes were put into use for a period of 30 days. After 30 days, the initially selected boxes were collected and removed another 30 cones for further analysis. Another 03 cones were collected from another gutta-percha box used to replace cones, a procedure performed as the usual protocol for replacing gutta-percha in empty boxes, in use at the IUEM dental clinic. In total, 63 gutta-percha cones were collected from 11 boxes

Result: In the investigation of 63 samples of gutta-percha cones, it was observed that only 3%, that is, 02 samples, showed growth of microorganisms, one in each phase. However, according to the result of the catalase test, it was found that they were not *Enterococcus faecalis*.

Conclusion: The possibility of microbial contamination of gutta-percha cones taken from new intact boxes and in cones from boxes in use is very small. It was shown that 97% of the sample was free from microorganism growth. Of the 3% of the samples that showed bacterial growth removed from the boxes, the number of colonies found was lower when compared to the new ones, it was found that they were not *Enterococcus faecalis*. It was possible to conclude that the cross-contamination prevention protocol currently used at the IUEM Clinic is effective.

Keywords: Guta-percha, secondary endodontic infections, *Enterococcus faecalis*, cross-infection

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	13
1. Microbiologia das infecções endodônticas secundárias	17
2. Fatores de sucesso endodôntico	20
2.1 Instrumentação.....	22
2.2 Descontaminação intracanal e medicação	23
2.3 Guta-percha e obturação	26
3. Descontaminação dos cones de guta-percha	28
4. Falhas na cadeia assética.....	32
II. MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
1. Considerações ética.....	37
2. Tipo de estudo	37
3. Local do estudo	37
4. Estudo	37
4.1 Objetivos.....	37
4.2. Amostra	38
4.3. Critérios de inclusão	38
4.4. Critérios de exclusão	38
4.5. Protocolo.....	38
III. RESULTADOS	45
IV. DISCUSSÃO	53
V. CONCLUSÕES.....	59

VI. BIBLIOGRAFIA.....	61
VII. ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Anatomia possível de ser encontrada num primeiro molar superior esquerdo (cortesia da empresa FKG Swiss Endo).....	13
Figura 2 - Radiografia de pré-molar com tratamento endodôntico com manifestações radiográficas. (cortesia do Dr. Carlos Franco).....	14
Figura 3 - Radiografia de pré-molar com retratamento endodôntico. (cortesia do Dr. Carlos Franco)	14
Figura 4 - Radiografia de pré-molar após retratamento com apicectomia realizada (cortesia do Dr. Carlos Franco).....	15
Figura 5 - Caixas novas de cones de guta-percha e cones de papel. (cortesia da empresa FKG Swiss Endo).....	15
Figura 6 - Cone de guta-percha no interior de um canal radicular. (Imagem cortesia da empresa Easy Odo)).....	16
Figura 7 - Consultório de Medicina Dentária da Clínica Dentária Egas Moniz, do IUEM, com indicação de recomendações gerais no controlo das infeções cruzadas (Acervo do Autor).....	34
Figura 8 - Materiais utilizados na rotina clínica na consulta de endodontia da Clínica Dentária Egas Moniz do IUEM, demonstrando o cuidado na esterilização e destacando a presença de 02 pinças (Acervo do Autor).....	36
Figura 9 - Mangas de esterelização previamente já esterelizadas para colocação das caixas de Guta-Percha, para serem trasportadas. (Acervo do Autor).....	39
Figura 10 - Caixa de guta-percha intacta a ser transportada para o laboratório de microbiologia. (Acervo do Autor).....	39
Figura 11 - Uma (01) caixa de Guta-Percha, onde se utilizou 01 pinça para cada cone recolhido (Acervo do Autor).....	40
Figura 12 - Tubo de ensaio inicial TUi01/A com 3ml contendo 01 cone de Guta-percha da caixa de nº 01 (Acervo do Autor).....	40
Figura 13 - Trinta (30) tubos de ensaio identificados com os 30 cones da fase inicial das caixas novas lacradas, cada tubo contendo 01 cone de Guta-percha, sendo 3 cones de cada uma das 10 caixas. (Acervo do Autor).....	41
Figura 14 - Três (03) placas de Petri contendo o meio de cultura D-Coccosel (DC) previamente à inoculação, onde cada placa foi inoculada com 200 µL da amostra do respetivo tubo de ensaio. (Acervo do Autor).....	41
Figura 15 - Caixa de cones de guta-percha com 03 cones restantes após manuseamento em rotina clínica . (Acervo do Autor).....	43

Figura 16 - Caixa de cones de guta-percha, 1ª série utilizada para reposição de cones novos. (Acervo do Autor).....	43
Figura 17 - Placa Pli07/B contendo D-Coccosel (DC), com a única amostra que demonstrou crescimento de colónia dos 30 cones iniciais analisados. marcadas a caneta preta para contagem. (Acervo do Autor).....	45
Figura 18 - Observação de bolhas numa colónia testada no método de teste de catalase, demonstrando ser catalase positivo, assim como as demais testadas. (Acervo do Autor).	46
Figura 19 - Demonstração de crescimento de colónia e teste de catalase na segunda fase da investigação: Placa Plr01/A contendo D-Coccosel (DC), marcadas a caneta preta para contagem. (Acervo do Autor)	46
Figura 20 - Observação de bolhas numa colónia testada no método do teste de catalase, da placa Plr01/A, demonstrando ser catalase positivo, assim como as demais colónias testadas dos cones retirados das caixas novas. (Acervo do Autor).....	47

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Relação dos 30 cones novos e respectivos resultados.....	48
Tabela 2 - Relação dos 30 cones em uso das caixas novas e respectivos resultados,	49
Tabela 3 - Relação dos 03 cones da caixa de reposição e respectivos resultados,	49
Tabela 4 - Características de cada variável.....	50
Tabela 5 - Distribuição de frequência dos cones novos.....	51
Tabela 6 - Distribuição de frequência dos cones em uso.....	51
Tabela 7 - Resultado dos 63 cones analisados para presença de <i>Enterococcus faecalis</i>	44

LISTA DE ABREVIATURAS

AP - periodontite apical
AA - abscesso apical
BAL - bactérias do ácido láctico
CDEM - clínica Dentárai Egas Moniz
CHX - clorohexidina
DC - D-Coccosel
E. faecalis - *Enterococcus faecalis*
IUEM - Instituto Universitário Superior Egas Moniz
MTAD - mistura de doxiciclina, ácido cítrico e um detergente
MTA - agregado de trióxido mineral
ml - mililitro
min - minutos
NaOCl - hipoclorito de Sódio
N/A - Não se aplica
OE - óleos essenciais
PAP - periodontite apical primária
PUI - irrigação ultrassónica passiva
PLi - placa de Petri contendo o meio de cultura inicial
PLi nº /A - placa de Petri contendo o meio de cultura inicial amostra A
PLi nº /B - placa de Petri contendo o meio de cultura inicial amostra B
PLi nº /C - placa de Petri contendo o meio de cultura inicial amostra C
PLf - placa de Petri contendo o meio de cultura final
PLf nº /A - placa de Petri contendo o meio de cultura final amostra A
PLf nº /B - placa de Petri contendo o meio de cultura final amostra B
PLf nº /C - placa de Petri contendo o meio de cultura final amostra C
s - segundos
SAP - periodontite apical secundária
TAP - pasta antibiótica tripla
TUi - tubo de ensaio inicial
TUi Nº / A - tubo de ensaio inicial amostra A
TUi Nº / B - tubo de ensaio inicial amostra B
TUi Nº / C - tubo de ensaio inicial amostra C
TUf - Tubo de ensaio final
TUf Nº / A - tubo de ensaio final amostra A
TUf Nº / B - tubo de ensaio final amostra B
TUi Nº / C - tubo de ensaio final amostra C
TUr nº/A - tubo de ensaio de caixa de reposição amostra A
TUr nº/B - tubo de ensaio de caixa de reposição amostra B
TUr nº/C - tubo de ensaio de caixa de reposição amostra C
µL - microlitro

I. INTRODUÇÃO

As infecções endodônticas podem ser classificadas em primárias, secundárias ou persistentes e apresentam uma invasão de micro-organismos e o aumento destes no sistema de canais radiculares. A permanência de micro-organismos no sistema de canais radiculares é um fator decisivo para o desenvolvimento de uma infecção endodôntica. Infecções de origem endodônticas estão associadas a uma grande diversidade de bactérias, sendo necessárias mais do que uma espécie de bactérias para desenvolver uma infecção endodôntica, mesmo que possa existir uma espécie bacteriana predominante relativamente outras espécies. Nenhuma bactéria, por si só, é capaz de desenvolver uma patologia endodôntica, sendo estas infecções consideradas polimicrobianas (Lins et al., 2013).

A presença e a persistência de micro-organismos nos canais radiculares é a principal causa da falha no tratamento endodôntico. Esta pode estar associada à grande diversidade anatômica presente em alguns canais radiculares (Fig. 1), à presença de uma restauração definitiva insatisfatória, à inadequada preparação químico-mecânica (Fig. 2) e, ainda, a obturação incorreta ou à utilização de materiais contaminados durante estes procedimentos (Nabeshima et al., 2011).

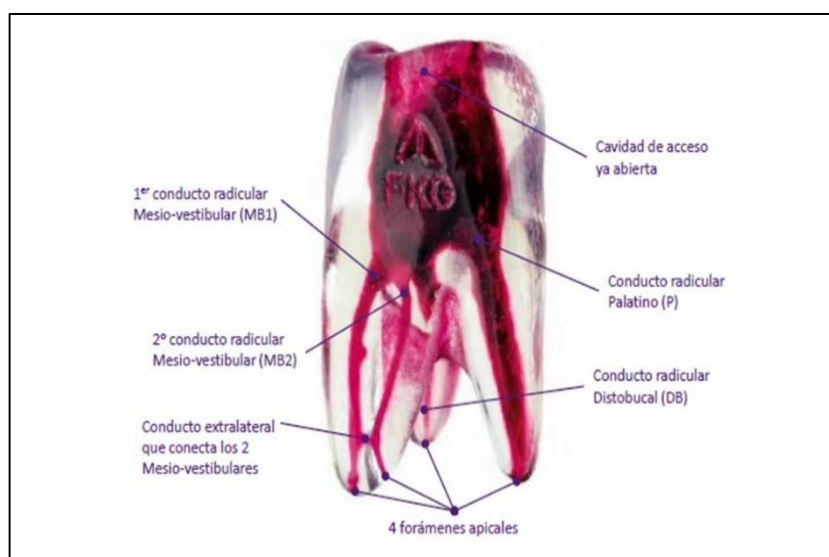


Figura 1 - Anatomia possível de ser encontrada num primeiro molar superior esquerdo (cortesia da empresa FKG Swiss Endo)



Figura 2 - Radiografia de pré-molar com tratamento endodôntico com manifestações radiográficas. (cortesia do Dr. Carlos Franco)

Quando o tratamento endodôntico primário fracassa, as lesões periapicais podem ser tratadas com ou sem recurso à cirurgia (Del Fabbro et al., 2016), conforme observável nas (Figs 3 e 4). Segundo Silva et al. (2019), alguns estudos publicados demonstraram resultados inconclusivos no que respeita às diferentes estratégias para desinfecção do canal radicular, devendo haver sempre a preocupação de mantê-lo o mais asséptico possível.



Figura 3 - Radiografia de pré-molar com retratamento endodôntico. (cortesia do Dr. Carlos Franco)



Figura 4 - Radiografia de pré-molar após retratamento com apicetomia realizada, controle após 6 meses (cortesia do Dr. Carlos Franco)

O objetivo final do tratamento endodôntico consiste na obtenção dos canais radiculares, com o propósito do total preenchimento dos canais radiculares, aprisionamento dos micro-organismos que possam ter sobrevivido a todo o processo de desinfecção química e preparação mecânica, e assim impedir o acesso das bactérias remanescentes aos tecidos perirradiculares e a nutrientes aí existentes. É de extrema importância que os instrumentos e materiais introduzidos no interior do sistema de canais radiculares não contribuam para a reinfeção, instalação, ou mesmo para a persistência de patologias endodônticas. Neste sentido, os cones de papel absorvente e cones de guta-percha (Figs 5 e 6) devem estar livres de contaminação microbiana durante a sua utilização (Marion et al., 2014).



Figura 5 - Caixas novas de cones de guta-percha e cones de papel. (cortesia da empresa FKG Swiss Endo)



Figura 6 - Cone de guta-percha no interior de um canal radicular. (Imagem cortesia da empresa Easy Odo)

As infeções secundárias ou persistentes podem ter origem em bactérias orais e noutras que não tem origem na cavidade oral. Por vezes, estas últimas podem ser introduzidas nos canais radiculares durante o processo de tratamento endodôntico, devido à falha de selamento coronário ou à quebra da cadeia assética que pode ocorrer por via iatrogénica. O uso de instrumentos contaminados introduzidos no canal durante o tratamento, limas contaminadas ou em contacto com uma luva contaminada, contaminação pela saliva por falha do isolamento, uso de cones contaminados, entre outros são exemplos da falha da cadeia assética no tratamento endodôntico (Siqueira, 2015).

A relação entre *Enterococcus faecalis* (*E. Faecalis*) e doenças pulpaes ou perirradiculares tem vindo a ser alvo de estudo há vários anos. Alguns estudos demonstraram que a taxa de deteção do micro-organismo *E. faecalis* é encontrada, maioritariamente, em infeções persistentes de dentes com tratamento endodôntico prévio, comparativamente com dentes com periodontite periapical crónica não tratada resultante de infeção primária (Zhang et al., 2015).

Yüzbasioğlu (2009), num estudo com o objetivo de investigar as atitudes, o conhecimento e o comportamento de médicos dentistas em relação ao controlo de infeções cruzadas demonstraram que estes possuíam um conhecimento moderado acerca destes procedimentos, pelo que, desta forma, concluíram que seria indicado proceder a um programa de formação continuada e cursos de curta duração sobre infeções cruzadas e procedimentos no controlo de infeções.

Com base nestas evidências, procurou-se investigar o tema do sucesso endodôntico em reação com a microbiologia das infecções endodônticas secundárias associado à quebra da cadeia assética, a fim de esclarecer as principais causas de lesões apicais recorrentes após o tratamento endodôntico. Uma vez que as infecções endodônticas secundárias podem ter origem em estirpes bacterianas não orais, devido a falhas ocorridas na cadeia assética pela utilização de instrumentos contaminados introduzidos no canal radicular.

Utilizando-se o vocabulário *Mesh*, uma ampla procura foi realizada nas seguintes bases de dados eletrônicas sistemáticas: *PubMed*, *Cochrane*, *Scielo*. Foram, ainda realizadas pesquisas adicionais nas revistas de endodontia que apresentam maior fator de impacto.

1. Microbiologia das infecções endodônticas secundárias

Rôças & Siqueira (2012), efetuaram um estudo analisando os tipos de micro-organismos encontrados nos canais radiculares em retratamento e observaram as espécies *Fusobacterium nucleatum*, *Propionibacterium*, *Pseudoramibacter alactolyticus* e *Streptococos*. Perante estes resultados, questionaram-se a possibilidade se o micro-organismo *E. faecalis* ser o principal patógeno causador das infecções pulpares persistentes ou secundárias, sugerindo que outras espécies apresentam ser patógenos candidatos associados a infecções endodônticas secundárias ou persistentes.

Num estudo de revisão sistemática e análise de meta-regressão, Leite et al. (2015), observaram que espécies de treponema se apresentam como importantes patógenos envolvidos em infecções endodônticas primárias e agudas.

Alguns estudos têm apresentado a presença de bastonetes, bacilos, cocos, e espiroquetas nas superfícies radiculares em casos de periodontite refratária, onde as investigações recentes mostraram que o micro-organismo *E. Faecalis* demonstra capacidade de se *coagregar* à *Fusobacterium nucleatum*. As interações de coagregação entre *E. faecalis* e *Fusobacterium nucleatum* sugeriram a capacidade desses micro-organismos coexistirem e contribuírem para a infecção endodôntica (Jhajharia et al., 2015).

Segundo estudos de revisão sistemática de Zhang et al. (2015), onde se efetuou a comparação da prevalência de *E. faecalis* em infeções intrarradiculares primárias e persistentes, observou-se que o micro-organismo *E. faecalis* apresentou estar correlacionado com infeções intrarradiculares persistentes em comparação com a periodontite periapical crónica inicial.

Os micro-organismos do género *Enterococcus* são gram-positivo, crescem em meio onde a temperatura oscila entre os 10°C e os 45°C e pH ótimo de 9,6, revelando estes a capacidade de adaptação a condições adversas. Deste modo, estes micro-organismos podem sobreviver nos canais radiculares, em locais onde os nutrientes são escassos, e onde a medicação intracanal pode não chegar (Kayaoglu & Orstavik, 2004).

A vigilância contínua, no que concerne à resistência antimicrobiana em enterococos de humanos e animais é primordial, de forma a identificar tendências e a resistência emergente. Os micro-organismos *E. faecalis* e *Enterococcus faecium* fazem parte tanto da flora gastrointestinal de humanos como de animais e, apesar de comumente poderem ser considerados comensais inofensivos, podem também ser causadores de uma série de infeções diferentes em humanos, incluindo infeções do trato urinário, seps e endocardite. Os micro-organismos *Enterococcus faecium*, que tem origem animal, pode agir como doador de genes de resistência a antimicrobianos para outros *enterococos* mais patogénos (Hammerum et al., 2010).

As infeções persistentes podem ser causadas por micro-organismos que sobreviveram à terapia inicial e perpetuam-se na região extrarradicular. Wang et al. (2012), efetuaram um estudo sobre a flora bacteriana presente na infeção primária comparando-a com o biofilme extrarradicular presente em amostras de raízes recolhidas a partir de cirurgias apicais de 23 dentes obturados apresentando lesões de periodontite apical persistente. As espécies *Propionibacterium*, *Actinomyces sp. oral*, *Prevotella sp. oral*, *Streptococcus*, *Burkholderia* e *Porphyromonas endodontalis*, foram detectadas na comunidade microbiana recolhida nas amostras apicais, sendo a prevalência de *Actinomyces sp. oral* e *Propionibacterium* mais elevadas (84,6% e 61,5%), *Propionibacterium* e *Actinomyces sp. oral* parecem contribuir de forma determinante para a infeção periapical persistente através da formação do biofilme extrarradicular.

A análise da microbiota encontrada em infecções endodônticas primárias e secundárias ou persistentes de pacientes em tratamento endodôntico, revelou que as infecções monomicrobianas de *E. faecalis* e *Actinomyces viscosus*, são mais frequentes em infecções endodônticas secundárias diagnosticadas clínica e radiograficamente. Em estudo observou-se que quando deparava-se com infecção endodôntica secundária com leve sintomatologia dolorosa que apresentava obturação insuficiente do canal radicular, esta estava associada com *Moracella osloensis*. Por outro lado, foi encontrada em dentes com abscessos apicais crônicos uma outra associação bacteriana constituída por *Atopobium rimae*, *Anaerococcus prevotii*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Dialister invisus* e *Fusobacterium nucleatum* (Tennert et al., 2014).

Os micro-organismos *Enterococos* fazem parte do grupo das bactérias produtoras de ácido láctico (BAL). Os fatores de virulência do *E. faecalis* e o *Enterococcus faecium* dos quais se destacam a presença de extracromossoma e elementos genéticos móveis, proteínas extracelulares (toxinas), constituintes da parede celular, capacidade de criação de biofilme e fatores de adesão e colonização são responsáveis pela resistência a antibióticos encontrada em infecções nosocomiais. Quanto ao potencial de virulência, destacam-se as características específicas do plasmídeo conjugativo enterocócico, a presença de citolisina, bacteriocinas, proteína de adesão de ligação ao colágeno e resistências para medicamentos (Ike, 2017).

As bactérias demonstram ser as principais causas de problemas pulpares. Estas possuem diferentes métodos de penetração e invasão do espaço endodôntico, seja através de lesões de cárie, exposições pulpares traumáticas ou fraturas dentárias. No entanto, o objetivo principal da terapia endodôntica é criar um ambiente biologicamente aceitável dentro do sistema de canais radiculares que possibilite a cura e a manutenção da saúde do tecido perirradicular. Alguns estudos demonstram que *E. faecalis*, *Actinomycetes* e *Propionibacterium propionicum* são as espécies mais frequentemente envolvidas em infecções radiculares e extrarradiculares persistentes (Dioguardi et al., 2019).

Os micro-organismos *Propionibacterium* são bastonetes gram-positivos anaeróbios ou aero-tolerantes e muitos estudos relacionam estas bactérias com infecções endodônticas primárias e secundárias. As bactérias do gênero *Propionibacterium* estão, definitivamente associadas às infecções endodônticas principalmente com as lesões endodônticas secundárias, surgindo que os micro-organismos *Propionibacterium Acnes* como as

mais prevalentes quando comparadas com *Propionibacterium propionicum* (Dioguardi et al., 2020).

As diversas infeções estão associadas à presença de uma microbiota muito diversificada. No entanto, algumas taxas parecem variar na quantidade entre periodontite apical primária (PAP), periodontite apical secundária (SAP) e abscesso apical (AA). Não se observou nenhuma associação específica de micro-organismos em relação com o tipo de infeção. Os estudos demonstraram uma diversidade de micro-organismos associados às infeções endodônticas, evidenciando uma comunidade de composição inespecífica, ainda que em maior abundância (Manoil et al., 2020).

Segundo a maioria das revisões sistemáticas, micro-organismos da espécie *E. Faecalis* são os principais patógenos responsáveis pelo insucesso do tratamento endodôntico, sendo-lhe reconhecido mecanismos de sobrevivência em diferentes ambientes, que vão desde a sua capacidade de reagir a diferentes normas de desinfecção, criar biofilmes, ser capaz de viver em áreas inacessíveis ao desbridamento químico mecânico do canal radicular e à sua capacidade de reação sinérgica com diferentes estirpes bacterianas. Assim sendo, são necessários ensaios clínicos para fornecer informações importantes sobre novos métodos de deteção microbiana de forma a que se possa obter maior conhecimento sobre as espécies bacterianas associadas às infeções endodônticas e compreender de que modo se poderá reduzir a sua presença no interior do sistema de canais radiculares (Alghamdi & Shakir, 2020).

2. Fatores de sucesso endodôntico

Os fatores de sucesso do tratamento endodôntico a longo prazo pode ser avaliado pelo resultado deste tratamento, contribuindo alguns fatores mais do que outros para a taxa de sucesso. Numa meta-análise realizada por Basmadjian-Charles (2002), observou-se que dois fatores principais aparentam influenciar o sucesso da terapia endodôntica: a condição periapical pré-operatória e o limite apical da obturação.

Gillen et al. (2011), observaram numa revisão sistemática com meta-análise, a qualidade da restauração coronária em comparação com a qualidade da obturação do canal radicular e sua implicação no sucesso do tratamento do canal radicular. Verificaram

que, apesar de poder ser espectável encontrar resultados clínicos mais insatisfatórios nos casos em que foi executada uma obturação adequada, mas com uma restauração coronária inadequada quando comparado com os com dentes em que foi executada uma obturação inadequada, mas com uma restauração coronal satisfatória parece, afinal, não existir diferença significativa no potencial de cura entre estas duas combinações possíveis.

Segundo o estudo de Del Fabbro et al. (2014), sobre infecções extrarradiculares em dentes tratados endodonticamente, destacando as principais hipóteses sobre a etiopatogenia e técnicas mais recomendadas para identificar a composição dos micro-organismos extrarradiculares causadores da patogenia, observou-se que as espécies bacterianas mais frequentemente identificadas em diferentes estudos e com diferentes técnicas podem variar significativamente. Apesar da presença de algumas espécies de micro-organismos parecer determinante, a real origem da infecção extrarradicular ainda não é específica. Segundo a literatura, verificam-se diferenças definidas nos métodos, objetivos e técnicas adotadas que conduziram a resultados extremamente diversificados, concluindo-se, assim, que a infecção extrarradicular pode ser uma doença multifatorial que exige uma análise sistemática adicional e aprofundada, com recurso a técnicas padronizadas.

Os fatores de sucesso do tratamento do canal radicular é definido pela ausência de sintomas e sinais clínicos em dentes sem envolvimento periodontal radiograficamente detetável. O sucesso depende de uma sucessão de variáveis relacionadas com a condição pré-operatória do dente, bem como com os procedimentos endodônticos e pós-operatórios (Manfredi et al., 2016).

Pode considerar-se que o sucesso do tratamento endodôntico está relacionado com medidas eficientes para a eliminação e prevenção da infecção dos canais radiculares, pelo que se recomenda que o tratamento deva iniciar-se pelo isolamento e desinfecção do campo operatório. De acordo com o estudo, verificou-se que nenhum campo operatório apresentou assepsia total e confiável, livre de bactérias, pelo que se conclui que é necessária a padronização de procedimentos de desinfecção e asséticos em endodontia (Malmberg et al., 2016).

Prada et al. (2019), referem que a principal causa de insucesso no tratamento endodôntico resulta da persistência de micro-organismos causadores da infecção intra ou

extrarradicular consequência da resistência apresentada por estes aos padrões de desinfecção utilizados. Desta forma, e com o objetivo de identificar a microbiota relacionada com o insucesso endodôntico, constatou-se que estes micro-organismos têm em comum características que os tornam capazes de resistir aos protocolos de desinfecção nomeadamente, a capacidade de formarem biofilmes, expressar genes de sobrevivência, ativar vias metabólicas alternativas, localizarem-se em áreas inacessíveis às técnicas de instrumentação do canal radicular e sinergismo bacteriano.

2.1 Instrumentação

Aminoshariae & Kulild (2015), procuraram compreender se a dilatação apical dos canais radiculares influenciaria a redução microbiana. Segundo uma revisão sistemática atual, a melhor evidência clínica disponível recomenda que as técnicas de desbridamento químico mecânico efetuadas com ênfase na dilatação apical do canal, não erradicam as bactérias na sua totalidade, durante este procedimento independentemente da dilatação obtida do forame apical.

Quando se procura relacionar o sucesso do tratamento endodôntico relativamente ao número de sessões para concluir o meso não se encontra concordância na literatura. Segundo Moreira et al. (2017), procuraram relacionar o sucesso do tratamento endodôntico com a realização de sessões únicas e sessões múltiplas. Os autores verificaram que, ambas as situações demonstraram taxas de sucesso semelhantes, independentemente da condição prévia da polpa e do periapex. No entanto, no caso de uma periodontite apical existe uma redução da incidência de complicações pós-operatórias quando se opta pela sessão únicas.

Rossi-Fedele & Ahmed (2017), procuram avaliar através de microtomografia computadorizada a eficácia de distintos protocolos de instrumentação utilizados na remoção de materiais de obturação de canais radiculares. Estes observaram que os diferentes sistemas evidenciam capacidades idênticas na remoção do material de obturação, contudo, no retratamento, a utilização de solventes embora aumente a capacidade de penetração das limas, acaba por dificultar a limpeza do canal radicular, quanto ao papel da agitação do irrigante, considerou-se controverso.

Apesar da pouca evidência científica disponível relativamente aos localizadores apicais, pode-se afirmar que estes reduzem a quantidade de exposição do paciente à radiação bem como, melhoram o nível de desempenho na determinação do comprimento de trabalho. Contudo, sugere-se efetuar, pelo menos, um controlo radiográfico de forma a despistar possíveis erros dos aparelhos eletrónicos (Martins et al., 2014).

Tsesis et al. (2015), efetuaram um estudo com o objetivo de estimar a precisão dos localizadores apicais eletrónicos relativamente à localização da constrição apical durante o tratamento quando comparado com os dados obtidos a partir de uma avaliação histológica da localização da constrição apical. Estes concluíram que, a precisão da medição eletrónica do comprimento de trabalho depende do equipamento que é usado e do tipo de irrigação, não sendo influenciada pelo estado do tecido pulpar.

2.2 Descontaminação intracanal e medicação

De forma a contribuir para as condições ideais e cicatrização dos tecidos periapicais, é de extrema importância a obtenção de um sistema de canais radiculares livre de bactérias antes do preenchimento radicular permanente (Fabricius et al., 2006).

A eficácia do hipoclorito de sódio (NaOCl) e clorexidina (CHX) no *E. faecalis* foi considerada através de uma revisão sistemática com meta-análise. Conclui-se, assim, que a desinfecção do sistema de canais radiculares que é gerada pela instrumentação e ação do NaOCl tem o objetivo de levar à redução da microbiota endodôntica existente o que, por sua vez, contribui para a melhoria da eficácia do tratamento intracanal e promove o sucesso do tratamento endodôntico (Estrela et al., 2008).

De acordo com o estudo de Fedorowicz et al. (2012), embora o NaOCl e a CHX sejam ambos usados no tratamento endodôntico, não há certeza de qual seja a solução, concentração ou combinação mais eficaz. Devido à variabilidade dos resultados encontrados na evidência, no que respeita à contagem bacteriana encontrada no final do tratamento e no aparecimento de dor pós-operatória quer se utilize o NaOCl ou a CHX, não permite concluir de que forma cada uma destas soluções podem contribuir para o sucesso a longo prazo do tratamento.

Os micro-organismos *E. faecalis* são considerados um dos micro-organismos mais resistentes que predominam no ecossistema microbiano de lesões perirradiculares persistentes nos casos de retratamento. Assim, vários estudos *in vitro* e *in vivo* procuraram avaliar e comparar a atividade antibacteriana do hipoclorito de sódio e da clorexidina em concentrações variáveis, fazendo uso de diversos modelos experimentais direcionados para esse micro-organismo (Luddin & Ahmed, 2013).

Comparando através de microscopia eletrônica de varrimento, a eficácia da irrigação ultrassônica passiva (PUI) com um novo sistema de ativação - EasyClean (EC), usando este um movimento recíproco para a remoção de resíduos nas paredes do canal em seis níveis apicais predeterminados, concluiu-se que a ativação do irrigante com um sistema alternativo EC permitiu uma remoção mais precisa de resíduos das regiões mais apicais do canal radicular comparativamente com o PUI (Kato et al., 2016).

Um ensaio clínico aleatório comparou os efeitos antibacterianos da irrigação com NaOCl a 2,5% e com a utilização de CHX a 2% durante a preparação de canais radiculares infectados com instrumentos rotativos de níquel-titânio. Não foi encontrada nenhuma diferença significativa na eficácia antibacteriana durante a preparação rotativa quando utilizada o NaOCl a 2,5% ou a CHX a 2% como solução irrigante principal (Rôças, 2016).

Comparando a eficácia antimicrobiana da CHX e do NaOCl, dois irrigantes usados no dia-a-dia clínico na terapia endodôntica de dentes permanentes, observou-se que a CHX e NaOCl são capazes de reduzir infecções bacterianas após irrigação sem que, desta forma, se verifiquem diferenças significativas na eficiência antimicrobiana entre ambos. Embora se tenha verificado que ambas as soluções apresentam eficácia antimicrobiana semelhante os seus mecanismos de ação são distintos. Desta forma, ambos podem ser utilizados como principais irrigantes antibacterianos de canal radicular. (Ruksakiet et al., 2020).

Os antibióticos podem ser usados como adjuvantes do tratamento endodôntico profilaticamente, por via sistêmica ou local. A utilização sistêmica de antibióticos é recomendada nas situações em que o organismo não foi capaz de eliminar as bactérias. A profilaxia antibiótica serve de prevenção em alguns casos de endocardite bacteriana, sendo recomendada a indivíduos de risco alto a moderado. A aplicação local é efetuada por meio intracanal através de irrigantes (Mohammadi, 2009).

Os tratamentos antibacterianos atualmente usados apresentam potenciais efeitos colaterais para o paciente, e induzem o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos. Portanto, é necessário encontrar alternativas melhores. Os óleos essenciais (OE) têm sido usados para o tratamento de várias doenças desde os tempos antigos e ganharam popularidade ao longo dos anos. A segurança e eficácia dos OE foi comprovada por vários ensaios clínicos, em revisão sistemática numa visão geral os OE, foram analisadas as indicações e os efeitos adversos dos OE, tendo-se concluído que estes têm potencial para serem apresentados como agentes terapêuticos ou preventivos para várias doenças orais, no entanto, são necessários mais ensaios clínicos para estabelecer a sua eficácia e segurança (Dagli et al., 2015).

A pasta antibiótica tripla (TAP) é muito usada na endodontia para desinfecção de canais radiculares em processos regenerativos. No estudo *in vitro* realizado por Reyhani et al., 2015, que visava aferir os efeitos antimicrobianos de diferentes concentrações de TAP em intervalos de 1, 2, 3 e 4 semanas num biofilme maduro de *E. faecalis*, não se observaram diferenças significativas entre os diferentes intervalos de tempo e verificou-se que a utilização de baixas concentrações de TAP a curto-prazo pode erradicar o biofilme de *E. faecalis* e minimizar os efeitos colaterais de alta concentração (Frough et al., 2015).

Um estudo de Benbelaïd et al. (2014), procurou verificar a capacidade do tratamento de infecções orais persistentes originadas por biofilme de *E. faecalis* multirresistente através de OE e observou-se que estes têm alta capacidade de eliminação do biofilme *E. Faecalis*.

Na avaliação da eficácia de diferentes concentrações de OE combinados com hidróxido de cálcio contra *E. faecalis*, constatou-se que a combinação dos OE testados com hidróxido de cálcio demonstrou ser promissora como medicamento intracanal no tratamento endodôntico devido à sua eficácia contra este micro-organismo. Uma vez que o hidróxido de cálcio, considerado o medicamento intracanal padrão, não é eficiente contra *E. faecalis*, os OE tornam-se importantes na terapia endodôntica (Silva et. al., 2019).

Lakhani (2017) considera que o tratamento do canal radicular é incompleto sem o uso de medicamentos intracanales e afirma que os mesmos contribuem para a redução

da contagem bacteriana e seus subprodutos, tornando os canais limpos e diminuindo as dores pós-operatórias. Com o objetivo de avaliar e comparar a atividade antimicrobiana da pasta antibiótica tripla, Moxifloxacina, hidróxido de cálcio e gel de clorexidina (CHX) a 2% na eliminação de *E. faecalis*, observou-se que o gel de CHX a 2%, isoladamente, inibiu completamente o crescimento de *E. faecalis* após um, sete e dez dias. O gel de CHX a 2% foi o medicamento mais eficaz contra *E. faecalis*, pois mostrou diferenças significativas quando comparado com a solução salina normal, hidróxido de cálcio, Moxifloxacina ou a pasta antibiótica tripla em todos os intervalos de tempo. O grupo da pasta de antibiótica tripla apresentou um efeito antibacteriano moderado, pois a sua diferença comparativamente com todos os grupos foi melhor em todos os dias. A Moxifloxacina foi mais eficaz do que o hidróxido de cálcio a 7 e 10 dias. Sendo assim, concluiu-se que a melhor eficácia antimicrobiana foi demonstrada pelo gel de CHX a 2%. A moxifloxacina foi igualmente eficaz em comparação com a pasta antibiótica tripla contra o *E. faecalis* em intervalos de tempo mais longos (Lakhani, 2017).

Sharaf & Alshareef (2019), efetuaram um estudo que procurou determinar através do uso da técnica espectrofotométrica de amostras clínicas retiradas de canais radiculares de dentes permanentes infetados com *E. faecalis*, o efeito pós-antibiótico do MTAD e da Clorohexidina a 2% usados como solução irrigante. Os autores concluíram que o MTAD é o antimicrobiano com maior eficácia e que apresenta elevado efeito bactericida contra *E. faecalis*, mostrando a maior zona de inibição, seguido pela Clorexidina 2%.

2.3 Guta-percha e obturação

Vishwanath & Rao (2019), efetuaram um estudo da história e evolução da gutapercha, quanto à sua origem, composição química, fabricação, desinfecção, reatividade cruzada e evolução do material, concluindo que esta é indispensável para o tratamento endodôntico devido à sua disponibilidade, custo-benefício, facilidade de uso clínico e inércia química.

A gutapercha é um isômero trans do poliisopreno e apresenta uma estrutura química de 1, 4, trans-poliisopreno. Considera-se que sua estrutura molecular é aproximada à da borracha natural de *Hevea brasiliensis*, que é um isômero cis do poliisopreno aparentando ter peso molecular alto (Goodman et al., 1974).

Durante a utilização clínica os cones de guta-percha precisam de ser desinfetados previamente a serem utilizados desta forma assegurando a cadeia assética. Esse é um aspeto importante para o tratamento endodôntico ser bem-sucedido, pois a sua estrutura molecular não permite ser esterilizada em autoclaves convencionais ou em estufas (Cardoso, 1999).

Mello et al. (2019), efetuaram uma investigação para determinar a possível influência da extensão da obturação no resultado final do tratamento do canal radicular. Verificou-se que, quer as obturações além como as aquém da constricção apical demonstraram uma maior associação com resultados menos favoráveis quando comparado com uma obturação ao nível do limite da constricção apical .

George et al. (2010), através de um estudo *in vitro*, analisaram a capacidade de formação de biofilme de *E. faecalis* em cones de guta-percha colocados em meios de cultura com saliva e soro enriquecidos com distintos tipos de nutrientes. Um total de 420 cones de guta-percha revestidos com cimento de *Sealapex* ou *Roth*, foram colocados em contacto com saliva ou soro durante 2, 4 e 12 semanas e subsequentemente incubados durante duas semanas com *E. faecalis* em meios de cultura enriquecidos em nutrientes e outros com depleção de nutrientes. Observou-se que o biofilme formado em condições ricas em nutrientes era regular, enquanto que o biofilme formado em condições de deficiência de nutrientes apresentou-se irregular e escasso. Em condições ambientais desfavoráveis, a saliva e o soro, em contacto com o cone guta-percha, desempenham um papel importante na formação de biofilmes.

É de conhecimento que os cones de guta-percha são produzidos em condições asséticas e compostos por óxido de zinco, sendo este o responsável pela atividade antibacteriana. Contudo, não deve ser excluída a hipótese de contaminação microbiana durante a manipulação, armazenamento ou até mesmo através dos aerossóis produzidos durante o procedimento clínico. Embora vários agentes químicos tenham já sido testados para sua descontaminação não existe até ao momento consenso sobre o melhor protocolo de desinfeção a ser utilizado (Carvalho et al., 2020).

Reis-Prado et al. (2021), através do estudo de revisão sistemática com meta-análise compararam os efeitos da preparação endodôntica em sessão única e sessões múltiplas no selamento apical. Os resultados demonstraram que no caso dos tratamentos em que foram

efetuadas sessões múltiplas ocorreu extravasamento de material apical com maior frequência concluindo-se, assim, que o prolongamento do tratamento para a preparação do espaço a obturar parece interferir de forma negativa no selamento apical final.

Através de uma revisão sistemática com meta-análise, Peng et al. (2007), procuraram avaliar duas diferentes técnicas de obturação de condensação a lateral a frio e a quente. O extravasamento de material ocorreu com maior frequência no grupo de obturação com guta-percha aquecida, comparativamente com o grupo em que foi executada a condensação lateral a frio. Concluindo-se, assim, que a obturação com a guta-percha aquecida apresenta uma taxa maior de sobre extensão quando comparada com a condensação lateral a frio. Contudo, relativamente à qualidade da obturação, prevalência da dor pós-operatória e resultados a longo prazo demonstraram ser idênticos entre os dois grupos.

O micro-organismo *E. faecalis* tem a capacidade de persistir, resistir e sobreviver em ambientes diversos. Têm sido realizados vários estudos no sentido de avaliar o efeito das nanopartículas de bismuto no *E. faecalis* como fator etiológico em infeções recorrentes do canal radicular e assim, encontrar uma estratégia alternativa para a sua eliminação. No entanto, observou-se que as nanopartículas de bismuto apresentam ser uma alternativa de interesse para o combate ao *E. faecalis* e para inibir a formação de biofilme de *Streptococcus mutans* e maior atividade antibacteriana comparativamente com a clorexidina, podendo sugerir-se a sua utilização em diferentes áreas da medicina dentária (Azad et al., 2020).

O agregado de trióxido mineral (MTA) apresentou boa adaptação marginal às paredes dentinárias, revelando também os melhores resultados num estudo realizado na comparação da adaptação marginal do MTA com outros materiais obturadores em cavidades radiculares. Contudo, nenhuma diferença significativa foi encontrada entre o MTA e qualquer um dos materiais de preenchimento testados (Küçükkaya & Parashos, 2019).

3. Descontaminação dos cones de guta-percha

A descontaminação dos cones de guta-percha utilizados no tratamento endodôntico pode ser efetuada por meio de agentes químicos, partindo do princípio que a usual contaminação dos cones consiste, essencialmente, em células bacterianas vegetativas.

Para a desinfecção dos mesmos é necessário um agente químico eficaz com ação rápida contra os micro-organismos (Gomes et al., 2005).

É importante que a cadeia assética seja respeitada, pelo que efetuar a desinfecção de cones de guta-percha utilizados na sequência do tratamento endodôntico pode ser de importância para que esta seja assegurada, uma vez que, o uso de material que esteja contaminado no interior do canal radicular pode colocar em causa o sucesso do tratamento (Gomes et al., 2010).

Num estudo realizado por Kayaoglu et al. (2009), avaliou-se o grau de contaminação microbiana em cones de guta-percha e constatou-se que estes, quando retirados diretamente da caixa selada, proveniente da fábrica, continham micro-organismos, levando à conclusão de que o uso clínico destas caixas parece indicar a possibilidade de uma contaminação adicional dos cones de guta-percha.

Pereira & Siqueira (2010) efetuaram um estudo com o objetivo de avaliar a percentagem de contaminação dos cones de *Resilon* e sete marcas diferentes de cones de guta-percha disponíveis no mercado. Desta forma, os cones foram retirados das caixas originais e transferidos para tubos de forma a seguirem o protocolo do método de estudo escolhido. Os resultados demonstraram que os cones de guta-percha novos não se encontravam contaminados. É de conhecimento que os fabricantes não garantem a esterilidade dos cones de guta-percha e estes por serem conservados habitualmente em embalagens abertas e, por isso, sujeitos à contaminação resultante da sua manipulação frequente após a primeira abertura da embalagem. Apesar dos resultados obtidos no estudo os autores não descartam a necessidade de desinfetar os cones antes da sua utilização.

Nacif et al. (2017), visando o estudo da contaminação microbiana de cones de guta-percha procedentes de caixas usadas em consultório, analisaram dois cones de guta-percha de 30 embalagens originais, já em uso clínico. Das 30 caixas analisadas observou-se que em 9 (30%) das caixas apresentaram contaminação bacteriana nos cones testados. Desta forma, este estudo enfatiza a necessidade de ser implementado um protocolo de desinfecção exigente antes da utilização de cones de guta-percha, para se evitar a contaminação.

Cardoso et al., (1999) realizaram um estudo com o objetivo de comparar a eficácia de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (0,25% a 4%) na esterilização de cones de guta-percha artificialmente contaminados com estirpes de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, e esporos de *Bacillus subtilis*. Verificou-se que a utilização do hipoclorito de sódio a 1% para descontaminação dos cones de Guta-Percha por 1 min revelou efeitos bactericidas e esporicidas.

Motta, (2001) efetuou um estudo onde procurou perceber a eficácia do NaOCl a 2,5% e do glutaraldeído a 2,2% (Cidex) como desinfetantes de cones de guta-percha e, também, a eficácia do armazenamento dos cones de guta-percha na presença ou ausência de paraformaldeído. Observou-se, neste estudo, que o NaOCl a 2,5% demonstrou ser eficaz após 5, 10 e 15 min, enquanto que, foi necessário um período de contato entre 10 a 12 horas com o glutaraldeído a 2,2% para se conseguir a esterilização. Relativamente à necessidade de armazenamento dos cones de guta-percha em paraformaldeído foi possível verificar a não ocorrência de contaminação bacteriana independentemente do seu armazenamento ser ou não em paraformaldeído. Concluiu-se que o NaOCl a 2,5% e glutaraldeído a 2,2% (Cidex) mostraram ser eficazes como agentes esterilizantes de cones de guta-percha, contudo o primeiro requereu tempo de contato inferior.

No sentido de avaliar os efeitos de três desinfetantes utilizados na medicina dentária para a descontaminação de cones de guta-percha, 60 cones de guta-percha foram inoculados com culturas puras padronizadas de cinco espécies de micro-organismos: *E. faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* esporos e *Streptococcus mutans*. Os cones foram tratados com solução aquosa de polivinilpirrolidona-iodo a 10%, NaOCl a 5,25% e formaldeído. Todos os agentes químicos foram eficazes na esterilização a frio dos cones de guta-percha em curtos períodos de tempo (Souza, 2003).

O NaOCl e a CHX demonstram ação antibacteriana eficaz para combater o *E. faecalis*, dependendo a sua concentração e forma de apresentação do tipo de micro-organismo e duração de contato com o mesmo. Ainda que exista uma possibilidade de interação tóxica, a atividade antibacteriana sinérgica da combinação de NaOCl / CHX mantém-se controversa. A desinfecção de guta-percha e de cones de *Resilon* com concentrações de NaOCl a 5,25% ou CHX a 2% conservaria a esterilidade do sistema de canais radiculares já preparados (Luddin & Ahmed, 2013).

Com o objetivo de efetuar a comparação da eficiência do NaOCl a 3% , clorexidina a 2%, ácido peracético a 1%, e a povidona iodada a 10% na rápida desinfecção de cones de guta-percha contaminados com *E. faecalis* e *Bacillus subtilis*, verificou-se que o ácido peracético a 1% demonstrou os melhores resultados, seguido pela clorexidina a 2% e por último pelo hipoclorito a 3%. Este estudo vem, assim, comprovar eficácia do ácido peracético a 1% e da clorexidina a 2% na desinfecção rápida da guta-percha (Subha et al., 2013).

Mezzomo et al. (2017), procuraram avaliar os efeitos das soluções de clorexidina e do hipoclorito de sódio na descontaminação dos cones de guta-percha. Assim, 24 de 40 cones foram contaminados com *E. faecalis* e divididos em grupos com a respectiva solução (CHX a 2%, CHX a 0,2% e NaOCl a 2,5%) e tempo de contato para a descontaminação de 15s, 30s e 60s e 2min, 5min e 10 min. A CHX a 0,2% não demonstrou eficácia na descontaminação dos cones de guta-percha em nenhum período indicado; a CHX a 2% revelou ser eficaz após 10 minutos, e o NaOCl a 2,5%, a partir dos 60 segundos. Com este estudo retirou-se a conclusão de que a solução que desinfetou os cones de guta-percha no menor tempo foi o NaOCl a 2,5%.

De forma a avaliar as alterações morfológicas na superfície de cones de guta-percha e Resilon após exposição a soluções desinfetantes e a necessidade de lavagem final, verificou-se a formação de cristais de cloreto em todas as amostras em que foram expostas a NaOCl a MTAD recomendando, por isso, a sua lavagem ulterior com água. Nas amostras em que foram colocadas em contacto com a cloroheixidina não houve necessidade de lavagem posterior porque não se verificou qualquer alteração da sua superfície. Desta forma, conclui-se que a lavagem final é essencial no processo de desinfecção dos cones, especialmente quando NaOCl e MTAD são utilizados (Prado et al., 2011).

Bracciale et al. (2020), efetuaram um estudo para avaliar a contaminação bacteriana das diferentes marcas de guta-percha usadas no dia-a-dia em clínica e também para verificar se existe um protocolo de desinfecção com hipoclorito de sódio que se revele eficaz. Foram utilizados 240 cones de guta-percha, observando-se um crescimento bacteriano em 22,9% do total de amostras em estudo. Duas marcas apresentaram o maior número de contaminação. Verificou-se que uma minoria de cones de guta-percha de uso clínico alojou bactérias, mesmo após o protocolo de desinfecção, embora, ainda assim, o

protocolo de desinfecção convencional viesse a demonstrar extrema eficácia na desinfecção (76,4%).

Na utilização de CHX e hipoclorito de sódio NaClO em concentrações diferentes por reduzidos tempos de exposição, concretamente, CHX a 2%, NaClO a 1% ou NaClO a 2,5% por 30s ou 1min, Carvalho et al. (2020), procuraram verificar a descontaminação de cones de guta-percha contaminados com a bactéria *Enterococcus faecalis*. Observou-se que, para evitar falhas, o tempo de exposição dos cones ao agente de exposição de descontaminação não deve ser reduzido e concluiu-se que os agentes NaClO a 1% ou a 2,5 % e CHX a 2% demonstraram ser eficientes na descontaminação dos cones no período de tempo de exposição de 1 min.

4. Falhas na cadeia assética

O controlo da infeção cruzada tem como base diversas medidas de procedimentos com o objetivo da diminuição do número de micro-organismos compartilhados entre as pessoas. Podem descrever-se algumas medidas principais no controlo de infeção: lavagem das mãos e o uso de luvas; a prevenção contra aerossóis e gotículas (uma realidade no atendimento clínico que engloba o ato de bochechos como pré-procedimento, dique de borracha com isolamento absoluto, uso de máscara, óculos e roupas de proteção); cuidados de esterilização e desinfecção; limpeza da superfície; boa gestão de perfurocortantes e outros resíduos regulamentados; atenção na reutilização assética de materiais, redução da contaminação da água da unidade de tratamento, procedimentos radiográficos asséticos, uso adequado dos descartáveis; e, por fim, a prevenção da contaminação do laboratório dentário (Miller, 1996).

Popovic et al. (2010), ao analisarem a presença de resíduos biológicos e o nível de contaminação dos instrumentos de endodontia reutilizáveis que foram sujeitos a diversificados métodos de limpeza antes da sua esterilização, verificaram que estes métodos se revelaram ineficazes na remoção destes resíduos. O conjunto da limpeza química, mecânica e ultrassónica dos instrumentos destacou-se como o melhor método para limpeza.

A água em linhas de unidades de tratamento é considerada também como uma fonte de fatores de risco biológico no ambiente de trabalho de um médico dentista quanto a contaminação microbiológica, pelo que se recomenda que os médicos dentistas sejam

informados sobre a contaminação microbiológica da água, assim como indicar os corretos procedimentos para o manuseamento da mesma (Szymańska & Sitkowska, 2013). Sendo a água um elemento essencial durante o atendimento do médico dentista, é importante dotar a equipa de forma a aprimorarem a sua prática e gerirem os procedimentos de forma a melhorar a qualidade microbiológica da água utilizada (Baudet et al., 2019).

Gotkowska-Płachta (2021), num estudo sobre a prevalência de enterococos virulentos e multirresistentes a fármacos em águas de rios e águas residuais municipais e hospitalares tratadas e não tratadas, verificou que em 283 estirpes foi identificado o uso de métodos dependentes de cultura e PCR, envolvendo sete espécies diferentes, entre elas *E. faecalis* e *E. faecium*, que prevaleceram na análise de todas as amostras. Na sua maioria, as estirpes revelaram-se multirresistentes, especialmente à estreptomicina e ao trimetoprim. Este estudo demonstra que os enterococos patogénicos são libertados com as águas residuais municipais tratadas e podem espalhar-se no rio, podendo ser uma ameaça epidemiológica e, com o tempo, tornarem-se um risco para a saúde.

Com o objetivo de se obter um melhor controlo das infeções cruzadas em consultório, é necessária uma boa organização e gestão. É importante que a responsabilidade pela supervisão da limpeza, esterilização e manutenção do equipamento sejam atribuídas a membros individuais da equipa. Por outro lado, toda a equipa precisa estar ciente da importância do controlo de infeções cruzadas e dos princípios básicos envolvidos na manutenção de um ambiente de trabalho seguro. A compreensão de como é efetuada a transmissão de agentes infecciosos é essencial para se definirem as medidas adequadas contra a transmissão e em conformidade com a legislação (Jakubovics et al., 2014).

Apresenta-se na (fig. 7) a representação de uma box do consultório da Clínica Dentária Egas Moniz do IUEM, na qual se verifica a preocupação com o controlo das infeções cruzadas, sendo utilizados cartazes com recomendações gerais para um ambiente de trabalho seguro.



Figura 7 - Consultório de Medicina Dentária da Clínica Dentária Egas Moniz, do IUEM, com indicação de recomendações gerais no controlo das infeções cruzadas. (Acervo do Autor)

Picheansanthian & Chotibang (2015), concluíram que o uso de luvas contribui para a redução de contaminação bacteriana. No entanto, o uso das mesmas não provou prevenir completamente a contaminação e demonstrou a necessidade de antisepsia das mãos antes e após o contacto com o paciente. Desta forma, é necessário implementar recomendações para melhorar o uso de luvas.

Ao avaliar educadores e alunos em instituições académicas de Medicina Dentária, relativamente à adesão aos procedimentos de higiene das mãos, observou-se que a taxa de higiene das mãos dos educadores mostrou ser maior do que a dos estudantes. Desta forma, há necessidade de promover ainda mais a higiene das mãos aos futuros profissionais, de forma a evitar a contaminação cruzada (Resende, 2019).

Shetty et al. (2018), procederam a um estudo com o intuito de definir o nível e tipo de contaminação microbiana que estava presente na superfície de vários equipamentos de laboratório dentário e fardas de laboratório e determinar, especificamente, o padrão de suscetibilidade aos antibióticos desses patógenos isolados. Observou-se que existiam mais micro-organismos nas fardas de laboratório dentário do que nos equipamentos de tratamento, e que a maioria dos organismos isolados (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase-negativa, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, bactérias gram-negativas não fermentadoras e espécies de *Bacillus*) apresentou aumento da resistência

antimicrobiana. Concluiu-se, assim, que os micro-organismos isolados na sua maioria não faziam parte da microflora oral normal, pelo que são aptos a causar diversas doenças e verifica-se que há possibilidade de existirem organismos multirresistentes no futuro.

A transmissão horizontal de bactérias, em especial as multirresistentes, é uma preocupação mundial na área da saúde. Ao analisar a contaminação bacteriana de batas de uso clínico, observou-se que estas são uma fonte potencial de transmissão bacteriana patogénica em ambientes de saúde (Goyal et al., 2019).

Com o objetivo de correlacionar e compreender se a eliminação da infeção endodôntica reduz a inflamação sistémica, compararam-se as concentrações plasmáticas de mediadores inflamatórios de indivíduos com periodontite apical em controlo. Observou-se que pode ser definida uma relação causal entre periodontite apical e inflamação sistémica (Georgiou et al., 2020).

Dioguardi et al. (2020), na análise dos procedimentos de esterilização e desinfeção, reafirmaram que o modo mais eficiente para se obter a esterilização de instrumentos endodônticos é o uso da autoclave. Em relação aos instrumentos descartáveis, ou uso pela primeira vez, são necessários procedimentos de pré-esterilização para se descartar a contaminação por micro-organismos provenientes de fábrica. A reutilização de instrumentos requer a remoção cuidadosa dos detritos de processamento procedentes do paciente. Concluiu-se também que a esterilização em autoclave não altera as propriedades físicas e mecânicas dos instrumentos de níquel-titânio e, no que concerne aos materiais não autoclaváveis, é recomendado o uso de desinfetantes para a sua descontaminação. A (Fig. 8) apresenta os instrumentos usados na rotina de consulta de endodontia da Clínica Dentária Egas Moniz do IUEM.



Figura 8 - Materiais utilizados na rotina clínica na consulta de endodontia da Clínica Dentária Egas Moniz do IUEM, demonstrando o cuidado na esterilização e destacando a presença de 02 pinças (Acervo do Autor)

II. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Considerações ética

O presente estudo foi aprovado pela Comissão Ética da Cooperativa de Ensino Superior Egas Moniz (nº 950).

2. Tipo de estudo

Investigação científica – Teste Microbiológico

3. Local do estudo

O estudo decorreu na Clínica Dentária Egas Moniz e no Laboratório de aulas de Microbiologia Aplicada do Instituto Universitário Egas Moniz, no Monte da Caparica, de 31 de maio 2021 a 02 de junho de 2021.

4. Estudo

4.1 Objetivos

O propósito da investigação foi avaliar a possibilidade de contaminação microbiana de cones de guta-percha retirados de uma caixa nova e em caixas em utilização, por alunos do 4.º e 5.º anos e também da Clínica assistencial de Endodontia na Clínica Dentária do Instituto Superior Egas Moniz, do ano letivo de 2020/2021.

Por outro lado, pretende-se verificar a possibilidade de existência de contaminação dos cones de guta-percha com *E. faecalis* após a manipulação dos referidos cones.

Por fim, este estudo pretende propor um protocolo de utilização dos cones de guta-percha com o intuito de contribuir para a prevenção da contaminação cruzada, e reforçar a importância da implementação por parte dos alunos dos métodos de desinfeção já existentes.

4.2. Amostra

Trinta (30) cones de guta-percha, 30# da Marca Neta , Biomed, CE 0120, ISO6877:2006 retiradas de dez (10) caixas novas inicialmente e mais trintas (30) cones retirados das mesmas caixas iniciais após 4 semanas em uso e mais tres (3) cones retirado de uma outra caixa aleatória da clínica dentária Egas Moniz perfazendo um total de 63 amostras de cones de guta percha retirados de 11 caixas.

4.3. Critérios de inclusão

As 11 caixas incluídas no estudo apresentavam os seguintes critérios:

- Manipulação sem o conhecimento da totalidade do estudo por partes de alunos, professores e funcionários da Clínica Dentária Egas Moniz (CDEM);
- Serem caixas de cones de guta-percha de utilização da rotina clínica pertencentes a cones de 1ª série;
- Das 11 caixas incluídas no estudo, 10 teriam de ser caixas novas e lacradas e uma (1) caixa seria já usada no protocolo de reposição de cones.

4.4. Critérios de exclusão

- O não enquadramento nos critérios de inclusão;
- As caixas em uso deveriam ser devolvidas com um mínimo de 03 cones de guta-percha para não inviabilizar o estudo.

4.5. Protocolo

Com o objetivo de avaliar a contaminação microbiana de cones de guta-percha provenientes de embalagens utilizadas na Clínica Dentária Egas Moniz, foram analisadas 10 caixas novas de cones de guta-percha, 30# da Marca *Meta Biomed*, CE 0120, ISO 6877:2006 utilizando-se a metodologia proposta por Kayaoglu G., 2009; Pereira & Siqueira, 2010 e Nacif, 2017 adaptadas as condições do estudo presente.

Inicialmente recolheram-se 10 caixas de guta-percha intactas da farmácia da Clínica Dentária Egas Moniz, as quais foram de imediato, colocadas no interior de mangas de esterilização (Figs. 9 e 10), previamente esterilizadas e transportadas para o Laboratório

de Microbiologia Aplicada do Instituto Superior de Ciências Egas Moniz, onde estas foram manipuladas por um único operador em condições de assepsia, sendo devidamente identificadas, conforme a (Tabela 1).



Figura 9 - Mangas de esterelização previamente já esterelizadas para colocação das caixas de Guta-Percha, para serem transportadas. (Acervo do Autor)



Figura 10 - Caixa de gutta-percha intacta a ser transportada para o laboratório de microbiologia. (Acervo do Autor)

Ao longo do procedimento experimental, o operador utilizou material e instrumentos esterilizados de forma a evitar qualquer contaminação bacteriana secundária das amostras em estudo, o qual fora realizado próximo ao bico, com chama apropriada.

Foram preparados previamente 30 tubos de ensaio. Em cada um dos tubos de ensaio esterilizados procedeu-se ao preenchimento com 3ml de soro fisiológico estéril. De cada uma das caixas de gutta-percha previamente identificadas com a numeração de 1 a 10, foram retirados, aleatoriamente, 3 cones de gutta-percha de cada caixa, como descrito na

Tabela 1. Seguidamente, os cones foram colocados em 30 tubos de ensaio nomeados e numerados, sendo colocado 1 cone em cada tubo, perfazendo um total de 30 cones de guta-percha em estudo na primeira fase (Figs 11, 12 e 13). Para o efeito, utilizou-se uma pinça estéril por cada cone retirado da caixa, com o objetivo de evitar a ocorrência de contaminação cruzada.



Figura 11 - Uma (01) caixa de Guta-Percha, onde se utilizou 01 pinça para cada cone recolhido. (Acervo do Autor)



Figura 12 - Tubo de ensaio inicial TUi01/A com 3ml contendo 01 cone de Guta-percha da caixa de nº 01(Acervo do Autor)



Figura 13 - Trinta (30) tubos de ensaio identificados com os 30 cones das caixas novas lacradas, cada tubo contendo 01 cone de Guta-percha, sendo 3 cones de cada uma das 10 caixas

Cada um dos tubos de ensaio foi identificado com o número da respectiva caixa e com a letra A, B ou C para diferenciar os três cones da mesma caixa, sendo devidamente identificadas, conforme (Tabela 1).

De seguida, procedeu-se à agitação dos 30 tubos num aparelho vórtex durante 30s. Após a agitação, foram retirados, com uma micropipeta, 200 μ L de cada um dos tubos de ensaio e inoculadas 30 placas de Petri contendo o meio de cultura D-Coccosel (DC), B.E.A AGAR, marca BIOGERM, SA., meio seletivo diferencial para confirmação de *E. faecalis* sob o ISO 7899-2 (Fig 14), (cf. Relatório de Ensaio no Anexo 05). Cada uma das caixas de Petri foi devidamente rotulada de acordo com a identificação do tubo de ensaio de onde o cone de guta-percha foi retirado (Tabela 1).

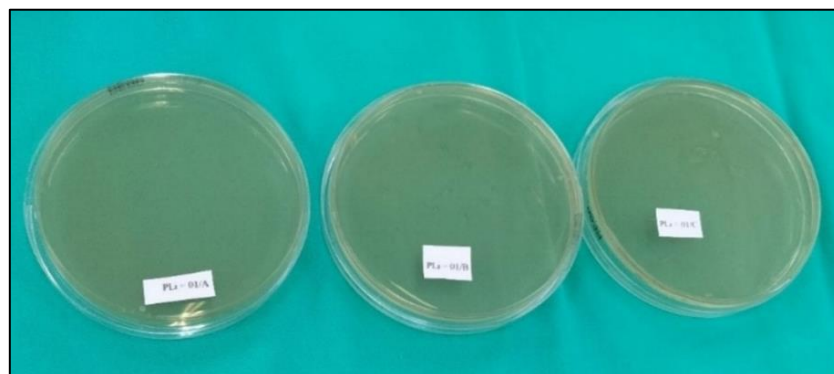


Figura 14 - Três (03) placas de Petri contendo o meio de cultura D-Coccosel (DC) previamente à inoculação, onde cada placa foi inoculada com 200 μ L da amostra do respectivo tubo de ensaio. (Acervo do Autor)

Após a inoculação, as 30 placas contendo meio de cultura D-Coccosel (DC) para isolamento de *Enterococcus faecalis*, (Figura 8) ficaram em incubação durante 48 horas numa estufa a 37⁰ C.

Após a recolha inicial dos cones das caixas de guta-percha devidamente identificadas, estas foram recolocadas nas mangas cirúrgicas e devolvidas à clínica para serem utilizadas nos procedimentos realizados pelos alunos e pela clínica assistencial, a serem recolhidas novamente num prazo de 4 semanas. Os alunos, a clínica assistencial e a farmácia não foram informados do objetivo principal do estudo, tendo apenas sido instruídos a utilizar normalmente as caixas até ao limite de 3 cones restantes, devendo, neste caso, entregar na farmácia, as caixas permitindo assim, que o procedimento de recolha experimental dos cones de guta-percha pudesse ter continuidade.

Após o período da incubação inicial das 48 horas, retiraram-se as placas da estufa e procedeu-se à contagem das colónias presentes em cada uma delas. Em seguida, procedeu-se à realização do teste de catalase, com o objetivo de verificar se os micro-organismos isolados possuíam a enzima de catalase. Para tal, colocou-se uma gota de água oxigenada numa lâmina para microscopia e, com o auxílio de uma ansa, próximo ao bico com chama apropriada, colocou-se cada colónia em contacto com a gota do reagente e analisou-se a sua efervescência, procurando identificar se eram catalase positiva ou negativa (Facklam et al., 2002 ; Brasil 2010 ; Wald et al., 2017).

Após as 4 semanas de utilização normal das caixas de guta-percha, continuou-se a investigação, onde as mesmas caixas foram retiradas do circuito da clínica com um mínimo de 03 cones em cada caixa, das mesmas 10 caixas analisadas inicialmente como demonstrado na (Figura 15) para não inviabilizar o estudo para repetição do procedimento já descrito anteriormente, e renomeados segundo a (Tabela 2).

Em conjunto com as 10 caixas descritas anteriormente, foi analisado também 01 (uma) caixa de cones de guta percha sortidos, 1^a série, caixa esta antiga usada para reposição de cones novos do protocolo da clínica Dentária Egas Moniz, como demonstrado na (Figura 16), retirando desta caixa 03 cones de guta-percha 20#, 25#, 30#, o que corresponde à repetição do procedimento já descrito e renomeado segundo a (Tabela 3).



Figura 15 - Caixa de cones de gutta-percha com 03 cones restantes após manuseamento em rotina clínica. (Acervo do Autor)



Figura 16 - Caixa de cones de gutta-percha, 1ª série utilizada para reposição de cones novos. (Acervo do Autor)

Após o período de incubação das novas amostras recolhidas nos tubos de ensaio contendo os cones de gutta-percha das caixas recolhidas após utilização pelos alunos, clínica assistencial e farmácia, procedeu-se à contagem das colónias formadas nas respetivas caixas de Petri, contendo o meio de cultura apropriado e realizado o teste de catalase, com o objetivo de saber se a colónia isolada era *E. faecalis*.

Caso o resultado fosse catalase negativo, seria *E. faecalis* e se fosse catalase positivo não seria *E. faecalis* (Facklam et al., 2002 ; Brasil, 2010; Wald et al., 2017).

Assim, no final, o número de cones de guta-percha em estudo fez 63 cones, sendo 60 cones das caixas novas e sendo 03 cones da caixa antiga usada para reposição de cones novos protocolo da clínica, do total das 11 caixas avaliadas.

III. RESULTADOS

Inicialmente dos 30 cones de guta-percha recolhidos para investigação para estudo em tempo inicial, das 10 caixas novas, apenas na inoculação com a amostra de cone de guta-percha nº 20 da caixa de nº 7 se identificou crescimento bacteriano (cf. Tabela 1 e Fig. 17).

Assim, dos 3 cones analisados da caixa de nº 7, apenas 1 cone apresentou crescimento de colónias na placa contendo o meio de cultura D-Coccosel (DC) para identificação de *E. faecalis*, apresentando 220 ufc/cone. Foi realizado o teste de catalase a todas as colónias detetadas, com o objetivo de verificar se os micro-organismos isolados possuíam a enzima de catalase.

Observou-se por 30 segundos se houve formação ou não de efervescência, como demonstra a (Fig. 18), sendo que se verificou que todas as colónias isoladas eram catalase positiva.



Figura 17 - Placa Pli07/B contendo D-Coccosel (DC), com a única amostra que demonstrou crescimento de colónia dos 30 cones das caixas novas, marcadas a caneta preta para contagem (Acervo do Autor)



Figura 18 - Observação de bolhas numa colónia testada no método de teste de catalase, demonstrando ser catalase positivo, assim como as demais testadas. (Acervo do Autor)

Na continuação da investigação dos 30 cones de guta-percha que estavam em utilização, recolhidos das mesmas 10 caixas analisadas anteriormente, não se identificou crescimento bacteriano em nenhuma delas (cf. tabela 2). Já na caixa antiga usada para reposição de cones novos, a caixa extra nº 11, que se encontrava já em uso na clínica com o tempo superior a 4 semanas, dos 03 cones pertencentes a caixa de nº 11 , apenas 01 cone apresentou crescimento de colónias na placa contendo o meio de cultura D-Coccosel (DC) para identificação de *E. faecalis*, cone # 20 , apresentando apenas 10 ufc/cone (cf. Fig. 19) (cf. tabela 3), onde também foi realizado o teste de catalase à colónia detetada e observou-se que também era catalase positiva como na fase de investigação inicial (cf. Fig. 20).

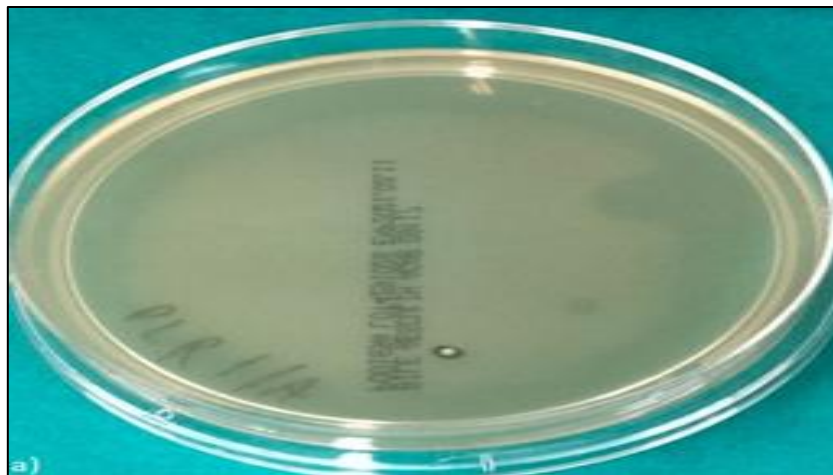


Figura 19 - Demonstração de crescimento de colónia de um cone da caixa de reposição: Placa Plr01/A contendo D-Coccosel (DC), marcadas a caneta preta para contagem. (Acervo do Autor)

A figura 19 apresenta a única amostra de crescimento num dos 33 cones analisados dos cones pertencentes as caixas em utilização, sendo este o cone nº 61 da caixa nº 11, uma caixa antiga usada como reposição de cones novos como protocolo na CDEM.



Figura 20 - Observação de bolhas numa colónia testada no método do teste de catalase, da placa Plr01/A, demonstrando ser catalase positivo, assim como as demais colónias testadas dos cones retirados das caixas novas (Acervo do Autor).

Tabela 1 - Relação dos 30 cones novos e respetivos resultados.

Nº do cone	Nº caixa	Nº Tubo	Nº Placa	Crescimento de colónia	ufc / cone	Teste de Catalase - ou +
01	01	TUi 01/A	PLi 01/A	NÃO	N/A	N/A
02	01	TUi 01/B	PLi 01/B	NÃO	N/A	N/A
03	01	TUi 01/C	PLi 01/C	NÃO	N/A	N/A
04	02	TUi 02/A	PLi 02/A	NÃO	N/A	N/A
05	02	TUi 02/B	PLi 02/B	NÃO	N/A	N/A
06	02	TUi 02/C	PLi 02/C	NÃO	N/A	N/A
07	03	TUi 03/A	PLi 03/A	NÃO	N/A	N/A
08	03	TUi 03/B	PLi 03/B	NÃO	N/A	N/A
09	03	TUi 03/C	PLi 03/C	NÃO	N/A	N/A
10	04	TUi 04/A	PLi 04/A	NÃO	N/A	N/A
11	04	TUi 04/B	PLi 04/B	NÃO	N/A	N/A
12	04	TUi 04/C	PLi 04/C	NÃO	N/A	N/A
13	05	TUi 05/A	PLi 05/A	NÃO	N/A	N/A
14	05	TUi 05/B	PLi 05/B	NÃO	N/A	N/A
15	05	TUi 05/C	PLi 05/C	NÃO	N/A	N/A
16	06	TUi 06/A	PLi 06/A	NÃO	N/A	N/A
17	06	TUi 06/B	PLi 06/B	NÃO	N/A	N/A
18	06	TUi 06/C	PLi 06/C	NÃO	N/A	N/A
19	07	TUi 07/A	PLi 07/A	NÃO	N/A	N/A
20	07	TUi 07/B	PLi 07/B	SIM	220	+
21	07	TUi 07/C	PLi 07/C	NÃO	N/A	N/A
22	08	TUi 08/A	PLi 08/A	NÃO	N/A	N/A
23	08	TUi 08/B	PLi 08/B	NÃO	N/A	N/A
24	08	TUi 08/C	PLi 08/C	NÃO	N/A	N/A
25	09	TUi 09/A	PLi 09/A	NÃO	N/A	N/A
26	09	TUi 09/B	PLi 09/B	NÃO	N/A	N/A
27	09	TUi 09/C	PLi 09/C	NÃO	N/A	N/A
28	10	TUi 10/A	PLi 10/A	NÃO	N/A	N/A
29	10	TUi 10/B	PLi 10/B	NÃO	N/A	N/A
30	10	TUi 10/C	PLi 10/C	NÃO	N/A	N/A

Tabela 2 - Relação dos 30 cones em uso das caixas novas e respectivos resultados.

Nº do cone	Nº caixa	Nº Tubo	Nº Placa	Crescimento de colónia	ufc / cone	Teste de Catalase - ou +
31	01	TUf 01/A	PLf 01/A	NÃO	N/A	N/A
32	01	TUf 01/B	PLf 01/B	NÃO	N/A	N/A
33	01	TUf 01/C	PLf 01/C	NÃO	N/A	N/A
34	02	TUf 02/A	PLf 02/A	NÃO	N/A	N/A
35	02	TUf 02/B	PLf 02/B	NÃO	N/A	N/A
36	02	TUf 02/C	PLf 02/C	NÃO	N/A	N/A
37	03	TUf 03/A	PLf 03/A	NÃO	N/A	N/A
38	03	TUf 03/B	PLf 03/B	NÃO	N/A	N/A
39	03	TUf 03/C	PLf 03/C	NÃO	N/A	N/A
40	04	TUf 04/A	PLf 04/A	NÃO	N/A	N/A
41	04	TUf 04/B	PLf 04/B	NÃO	N/A	N/A
42	04	TUf 04/C	PLf 04/C	NÃO	N/A	N/A
43	05	TUf 05/A	PLf 05/A	NÃO	N/A	N/A
44	05	TUf 05/B	PLf 05/B	NÃO	N/A	N/A
45	05	TUf 05/C	PLf 05/C	NÃO	N/A	N/A
46	06	TUf 06/A	PLf 06/A	NÃO	N/A	N/A
47	06	TUf 06/B	PLf 06/B	NÃO	N/A	N/A
48	06	TUf 06/C	PLf 06/C	NÃO	N/A	N/A
49	07	TUf 07/A	PLf 07/A	NÃO	N/A	N/A
50	07	TUf 07/B	PLf 07/B	NÃO	N/A	N/A
51	07	TUf 07/C	PLf 07/C	NÃO	N/A	N/A
52	08	TUf 08/A	PLf 08/A	NÃO	N/A	N/A
53	08	TUf 08/B	PLf 08/B	NÃO	N/A	N/A
54	08	TUf 08/C	PLf 08/C	NÃO	N/A	N/A
55	09	TUf 09/A	PLf 09/A	NÃO	N/A	N/A
56	09	TUf 09/B	PLf 09/B	NÃO	N/A	N/A
57	09	TUf 09/C	PLf 09/C	NÃO	N/A	N/A
58	10	TUf 10/A	PLf 10/A	NÃO	N/A	N/A
59	10	TUf 10/B	PLf 10/B	NÃO	N/A	N/A
60	10	TUf 10/C	PLf 10/C	NÃO	N/A	N/A

Tabela 3 - Relação dos 03 cones da caixa de reposição e respectivos resultados.

Nº cone	# tipo de cone	Nº caixa	Nº Tubo	Nº Placa Resposição	crescimento de colónia	ufc/cone	Teste de Catalase - ou +
61	20	11	TUr 01/A	PLr 01/A	SIM	10	Positivo (+)
62	25	11	TUr 01/B	PLr 01/B	NÃO	N/A	N/A
63	30	11	TUr 01/C	PLr 01/C	NÃO	N/A	N/A

A estatística descritiva apresenta os dados levantados numa pesquisa de acordo com a sua característica, onde as variáveis (conjunto de dados atribuído a uma certa característica) estudadas podem ser divididas em qualitativas ou quantitativas. Neste trabalho foram usadas as variáveis qualitativas.

A variável qualitativa consiste em agrupar o conjunto de dados (63 placas) a uma característica. Essa característica pode ter diversos atributos. Neste trabalho, as variáveis foram: cones novos, cones em uso, crescimento de colónias e presença de *E. faecalis*. As características estão descritas na (tabela 4):

Tabela 4 - Características de cada variável

Variáveis	Categoria
Crescimento de colónias	Não
	Sim
Presença de <i>E. faecalis</i>	Não
	Sim
Cones novos	PLi A
	PLi B
	PLi C
Cones em uso	PLf A
	PLf B
	PLf C
	PLr A
	PLr B
	PLr C

Desta forma, a melhor maneira de visualizar esses dados agrupados foi a distribuição de frequência, com o objetivo resumir e mostrar o comportamento dos dados recolhidos.

Observou-se um resumo a partir da folha de dados coletados. A recolha de dados divide-se em caixas novas e caixas em uso, o que fica demonstrado nas tabelas 5 e 6, onde

se identifica o surgimento de colônias de bactérias em apenas 3% (1), dos casos avaliados no entanto em ambas não houve presença de *E. faecalis*.

Tabela 5 - Distribuição de frequência dos cones novos.

Variáveis	Categoria	Cones novos						Total	
		Pli A		Pli B		Pli C			
		Freq	%	Freq	%	Freq	%	Freq	%
Crescimento de colônias	Não	10	33%	9	30%	10	33%	29	97%
	Sim	0	0%	1	3%	0	0%	1	3%
	Total	10	33%	10	33%	10	33%	30	100%
Presença de <i>Enterococcus faecalis</i>	Não	0	0	220	100%	0	0	220	100%
	Sim	0	0	0	0%	0	0	0	0%
	Total	0	0	220	100%	0	0	220	100%

Tabela 6 - Distribuição de frequência dos cones em uso.

Variáveis	Categoria	Cones em uso												Total	
		Plf A		Plf B		Plf C		PLr A		PLr B		PLr C			
		Freq	%	Freq	%	Freq	%	Freq	%	Freq	%	Freq	%	Freq	%
Crescimento de colônias	Não	10	30%	10	30%	10	30%	0	0%	1	3%	1	3%	32	97%
	Sim	0	0%	0	0%	0	0%	1	3%	0	0%	0	0%	1	3%
	Total	10	30%	10	30%	10	30%	1	3%	0	0%	0	0%	33	100%
Presença de <i>Enterococcus faecalis</i>	Não	0	0	0	0	0	0	10	100%	0	0%	0	0%	10	100%
	Sim	0	0	0	0	0	0	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
	Total	0	0	0	0	0	0	10	100%	0	0%	0	0%	10	100%

Assim sendo, a quase totalidade das amostras demonstrou a não existência de crescimento de micro-organismos, considerando que dos 63 cones analisados apenas 02 (3%) dos cones de guta-percha apresentaram crescimento de colônias, ainda que as mesmas apresentem ser catalase positiva, o que permite concluir que no presente estudo não houve crescimento para *E. faecalis* em nenhuma análise da investigação dos 63 cones avaliados (cf. tabela 7).

Tabela 7 - Resultado dos 63 cones analisados para presença de *Enterococcus faecalis*.

	Quantidade de cones de Guta Percha analisados	Quantidade de placas com crescimento de colônias	Presença de <i>E. faecalis</i>
Cones novos	30	1	0
Cones em uso	33	1	0
Total	63	02	0

IV. DISCUSSÃO

Os cones de guta-percha são comercializados de acordo com a norma ISO 6877:2006 onde a obrigatoriedade dos requisitos de esterilidade não está especificada, não havendo, por isso, a atribuição de responsabilidade ao fabricante pela sua inexistência. Os cones de guta-percha utilizados no tratamento endodôntico, como referido na introdução, são produzidos em condições assépticas. Apresentando estes na sua composição óxido de zinco, que contribui para a atividade antibacteriana (Carvalho, 2020). Embora Pereira & Siqueira (2010), seria espectável por isso, verificar-se a possibilidade de caixas novas apresentarem ausência de contaminação. No entanto, o risco de caixas novas já virem contaminadas é real, como descrito por Kayaoglu et al., (2009) e o aumento desta contaminação pode ocorrer no manuseamento do material, na rotina clínica, como relatado por Nacif et al., (2017).

A principal falha endodôntica prende-se com a persistência de micro-organismos causadores da infeção intra ou extrarradicular e que se tornam resistentes aos padrões de desinfecção, o que leva a dificuldades quando nos deparamos com o micro-organismo *E. faecalis*, uma vez que, o medicamento intracanal padrão-ouro, o hidróxido de cálcio, não é eficaz contra *E. faecalis* (Prada et al., 2019). Este facto justifica a opção de escolha, no presente estudo, de se isolar apenas este micro-organismo com o objetivo de conhecer melhor o seu comportamento.

Na investigação do presente trabalho, onde se avaliaram 30 cones de guta-percha novos intactos de caixas lacradas, observou-se que, dos 30 cones analisados, apenas 01 cone apresentou crescimento na placa contendo o meio de cultura D-Coccosel (DC) para identificação de micro-organismo *E. faecalis*. No entanto, ao realizar-se o teste de catalase das 220 ufc/cone apresentadas, observou-se que todas eram catalase positiva.

A catalase é uma enzima intracelular que é encontrada em alguns micro-organismos, sendo que a presença desta enzima possibilita distinguir micro-organismos de catalase-negativa de outros cocos gram-positivos produtores de catalase-positiva, como, por exemplo, *Staphylococcus spp*, *Micrococcus spp* e *Stomatococcus spp*. No teste realizado no presente estudo, identificou-se a formação de bolhas pelo oxigénio molecular que foram libertadas na reação de catalase, onde a enzima efetua a decomposição do peróxido de hidrogénio, caracterizando uma catalase – positiva, e levando à conclusão de

que as colónias encontradas inicialmente não eram de *Enterococcus faecalis*. (Facklam et al., 2002; Hervé & Porte 2007; Wauters Georges & Vaneechoutte 2015; Wald et al., 2017).

No entanto a preseça de micro-organismo no início da presente investigação confronta os achados de Pereira & Siqueira (2010), onde no seu estudo observou que caixas novas podem apresentar ausência de micro-organismos.

Ainda que a microbiota das infeções primárias e secundárias ou persistentes aparente ser de origem polimicrobiana (Lins et al., 2013; Manoil et al., 2020) algumas espécies de micro-organismos demonstraram ser determinantes, mas a real origem da infeção extrarradicular ainda não é específica (Del Fabbro, et al., 2014; Alghamdi & Shakir, 2020).

Quanto às espécies microbianas mais determinantes para o insucesso do tratamento endodôntico, Rôças & Siqueira (2012) ; Wang et al., (2012) e Dioguardi et al., (2020), observaram espécies como *Fusobacterium nucleatum*, *Propionibacterium*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *estreptococos* e *Actinomyces sp. Oral*, apresentando estarem associadas aos principais elementos causadores das infeções pulpares persistentes ou secundárias. No entanto, divergindo destes achados, Zhang et al. (2015); Dioguardi et al. (2019); Zargar. (2019) demonstraram em estudos que *Enterococcus faecalis* apresenta ser uma das principais causas de lesões periodontais apicais recorrentes após o tratamento endodôntico em concordância com Dioguardi et al., (2020); Alghamdi & Shakir (2020).

Na revisão bibliográfica, *E. faecalis* demonstrou apresentar ser um micro-organismo resistente que tem domínio sobre o ecossistema microbiano de lesões perirradiculares persistentes nos casos de retratamento, caracterizando-se por serem gram-positivo, crescerem em temperaturas entre os 10°C e os 45°C, com um pH ótimo de 9,6, apresentando capacidade de adaptação, sobrevivendo nos canais radiculares em locais onde os nutrientes são escassos e a medicação intracanal pode não chegar . Pertencem ao grupo das bactérias do ácido láctico (BAL), onde fatores de virulência favorecem *E. faecalis* e *E. faecium* isolados em infeções nosocomiais, incluindo resistência a medicamentos, entre outras situações como extracromossomo e elementos genéticos móveis, proteínas extracelulares (toxinas), constituintes da parede celular,

criação de biofilme, fatores de adesão e fator de colonização (Kayaoglu & Orstavik, 2004; Van Schaik & Willems, 2010; George, 2010; Luddin & Ahmed, 2013; Ike, 2017; Azad, 2020).

Na continuação da investigação, após 4 semanas, as caixas de utilização em clínica foram recolhidas do uso clínico e destas foram retiradas amostras de mais 30 cones de guta-percha das mesmas caixas analisadas inicialmente, onde se observou que não decorreu nenhum crescimento de colónia ao meio de cultura para *E. Faecalis*. Ainda que, dos 03 cones analisados da caixa de reposição, 01 apresentasse crescimento de colónia, este não era positivo para *E. Faecalis*.

Referente ao número de unidades de formação de colónias formadas por cone observou-se no presente estudo, que nos cones em utilização o número de colónias foi inferior aos cones novos, confrontando a suposição dos achados de Kayaoglu et al., (2009) e Nacif et al., (2017) sobre o aumento desta contaminação na rotina clínica, demonstrando que é possível manter o controle sobre o risco desta contaminação.

Na investigação, foi seguido o protocolo de biossegurança do Laboratório de Microbiologia do IUEM a fim de manter o ambiente mais assético possível. Cada cone de guta-percha dos 63 espécimes totais foi manipulado com uma pinça única por cone, totalizando 63 pinças estéreis para 63 cones a fim de se evitar um risco de contaminação cruzada. A manipulação dos cones e inoculações foram realizadas próximo da chama do bico de Bunsen, sempre com o objetivo subjacente de evitar a falha na cadeia assética do estudo.

A falha na cadeia assética pode colocar em risco o sucesso do tratamento endodôntico (Cardoso, 1999; Gomes et al., 2010; Siqueira et al., 2015). É necessário respeitar atitudes fundamentais para se reduzir o risco de falha na cadeia assética (Burke, 1990; Miller, 1996).

Cuidados como a lavagem das mãos e o uso de luvas (Picheansanthian & Chotibang, 2015; Resende, 2019), a prevenção contra aerossóis e gotículas nos tratamentos endodônticos, uma realidade no atendimento clínico sendo indicado o uso de bochechos como pré-procedimento (Miller, 1996; Carvalho et al., 2020), a proteção do campo com dique de borracha com isolamento absoluto (Miller, 1996), uso de máscara,

óculos e roupas de proteção (Miller, 1996; Goyal, et al., 2019); cuidados na esterilização, desinfecção e limpeza da superfície (Miller, 1996; Popovic et al., 2010; Jakubovics et al., 2014; Dioguardi et al., 2020, Sovereto et al., 2020); boa gestão de perfurocortantes e outros resíduos regulamentados (Miller, 1996; Jakubovics et al., 2014); atenção na recuperação assética dos materiais utilizados durante os procedimentos, redução da contaminação da água da unidade odontológica (Szymańska & Sitkowska, 2013; Baudet et al., 2019); procedimentos radiográficos asséticos (Miller, 1996); uso adequado dos descartáveis e, por fim, a prevenção da contaminação do laboratório dentário (Miller, 1996; Shetty, et al., 2018).

Na busca de se conseguir uma desinfecção dos cones de guta-percha contra *E. faecalis*, não se observou, na literatura, um consenso sobre o qual melhor protocolo de desinfecção dos cones de guta-percha a ser utilizado, embora vários agentes químicos já tenham sido testados para a sua descontaminação. A literatura publicada, demonstrara ser o NaClO a 1%, a 2,5%, a 5%, a 5,25% e a CHX 2% utilizados por 1 minuto os mais recomendados (Cardoso, 1999; Motta, 2001; Souza, 2003; Luddin & Ahmed, 2013; Subha, 2013; Mezzomo, 2017; Carvalho, 2020; Bracciale, 2020). Destaca-se que a lavagem final é fundamental, principalmente quando NaOCl e MTAD são utilizados no processo de desinfecção dos cones para se remover os cristais de cloreto nos cones de guta-percha. Já na CHX, não se mostrou ter necessidade de utilizar o mesmo procedimento (Prado, 2011).

Pesquisas demonstram que atualmente a melhor forma de eliminar *E. faecalis* intracanal é a aplicação intracanal de clorexidina 2% por 7 dias, ainda que haja estratégias alternativas para a sua prevenção ou erradicação e que estimulam a investigação do efeito das nanopartículas de bismuto presente no agregado de trióxido mineral (MTA) em *E. faecalis* apresentando maior atividade antibacteriana em comparação com clorexidina (Azad, 2020). Contudo, mais estudos são necessários para melhor esclarecimento.

A literatura mostra que o critério do sucesso do tratamento ou retratamento do canal radicular é caracterizado pela ausência de sintomas e sinais clínicos em dentes sem evidência radiográfica de envolvimento periodontal. Está igualmente definido que o sucesso do tratamento do canal radicular depende de uma série de variáveis relacionadas com a condição pré-operatória do dente, bem como com os procedimentos endodônticos

e pós-operatórios. A presença e a persistência de micro-organismos nos canais radiculares é a principal causa da falha no tratamento endodôntico e pode ser explicada pela restauração definitiva insatisfatória, a inadequada preparação químico-mecânica, uma obturação incorreta ou utilização de materiais contaminados durante estes procedimentos (Nabeshima et al., 2011; Malmberg, 2016; Manfredi, 2016; Prada et al., 2019). Se, por ventura, se nos depararmos com o insucesso do tratamento ou retratamento endodôntico, as lesões periapicais podem ser retratadas com ou sem cirurgia (Del Fabbro et al., 2016).

Por fim, caso seja indicada cirurgia, os estudos demonstram que as taxas de sucesso e os resultados previsíveis podem ser esperados quando a microcirurgia endodôntica é realizada por endodontistas treinados, permitindo um bom prognóstico e preservação dos dentes afetados por PA secundária (Setzer, 2012; Pinto, 2020). No entanto, o material de obturação da raiz e o retratamento não cirúrgico antes da microcirurgia endodôntica podem influenciar o resultado a longo prazo (Huang, 2020).

V. CONCLUSÕES

A investigação constatou-se que os cones de guta-percha retirados diretamente das caixas que vinha de fábrica lacradas, apresentou 97% isentos de crescimento de micro-organismo. Pertinente aos cones de guta-percha retirados das caixas da rotina da CDEM, apresentou o mesmo resultado. Observou-se dos 3% que apresentaram crescimento de micro-organismo, o número de colónias formadas nos cones das caixas em uso foi inferior em comparação com os cones das caixas novas, no entanto e todas não era *E. Faecalis*, e sim *Staphylococcus spp* catalase positivo.

Quanto ao protocolo de utilização dos cones de guta-percha utilizado na Clínica Dentária Egas Moniz, no que respeita à forma de utilização de caixas de guta-percha pelo manuseamento de alunos e funcionários, e quanto à reposição de cones novos em caixas antigas, demonstrou não interferir na quebra da cadeia assética. Conclui-se, que o protocolo de controle da cadeia asséptica em vigor, demonstrou ser eficaz no controlo da prevenção da contaminação cruzada não sendo necessário implementar alterações ao que atualmente é seguido.

Todavia é recomendável a realização de mais estudos no futuro a fim de confirmar o presente resultado. A realização de novos estudos não virá seguramente diminuir a importância dos métodos de desinfecção já existentes e que são reconhecidamente eficazes na descontaminação dos cones de guta percha dos quais se destacam a utilização do NaClO a 5% e a CHX 2% por 1 minuto.

VI. BIBLIOGRAFIA

Alghamdi, F., & Shakir, M. (2020). The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus*, 12(3), 1-7. <https://doi.org/10.7759/cureus.7257>

Aminoshariae A, & Kulild J. (2015). Master apical file size - smaller or larger: a systematic review of microbial reduction. *International Endodontic Journal*, 48(11), 1007-1022. <https://doi.org/10.1111/iej.12410>

Attia, D., Farag, A. M., Afifi, I. K., & Darrag, A. M. (2015). Antimicrobial effect of different intracanal medications on various microorganisms. *Tanta Dental Journal*, 12 (1), 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.tdj.2014.10.005>

Azad, A., Rostamifar, S., Modaresi, F., Bazrafkan, A., & Rezaie, Z. (2020). Assessment of the Antibacterial Effects of Bismuth Nanoparticles against *Enterococcus faecalis*. *Bio Med research international*, 2020(1), 1-7. <https://doi.org/10.1155/2020/5465439>

Basmadjian-Charles, C. L., Farge, P., Bourgeois, D. M., & Lebrun, T. (2002). Factors influencing the long-term results of endodontic treatment: a review of the literature. *International dental journal*, 52(2), 81–86. <https://doi.org/10.1111/j.1875-595x.2002.tb00605>

Baudet, A., Lizon, J., Martrette, J. M., Camelot, F., Florentin, A., & Clément, C. (2019). Dental Unit Waterlines: A Survey of Practices in Eastern France. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 16(4242), 1-8. <https://doi.org/10.3390/ijerph16214242>

Baudet, A., Lizon, J., Martrette, J. M., Camelot, F., Florentin, A., & Clément, C. (2020). Efficacy of BRS® and Alpron®/Bilpron® Disinfectants for Dental Unit Waterlines: A Six-Year Study. *International journal of environmental research and public health*, 17(8), 2634. <https://doi.org/10.3390/ijerph17082634>

Benbelaïd, F., Khadir, A., Abdoune, M. A., Bendahou, M., Muselli, A., & Costa, J. (2014). Antimicrobial activity of some essential oils against oral multidrug-resistant

Enterococcus faecalis in both planktonic and biofilm state. *Asian Pac J Trop Biomed*, 4(6), 463-472. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C1203>

Bracciale, F., Marino, N., Noronha, A., Manso, M. C., Gavinha, S., Lopes I. C., I., Pina, C., & Teles, A. M. (2020). Bacterial Contamination of Guta-percha Points From Different Brands and the Efficacy of a Chairside Disinfection Protocol. *European endodontic journal*, 5(3), 282–287. <https://doi.org/10.14744/eej.2020.44265>

Brasil. *Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde - Módulo V: Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica*, Anvisa/Ministério da saúde, 1ª edição, 2010.

Burke F. J. (1990). Use of non-sterile gloves in clinical practice. *Journal of dentistry*, 18(2), 79–89. [https://doi.org/10.1016/0300-5712\(90\)90089-w](https://doi.org/10.1016/0300-5712(90)90089-w)

Cardoso, C. L., Kotaka, C. R., Redmerski, R., Guilhermetti, M., & Queiroz, A. F. (1999). Rapid decontamination of guta-percha cones with sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*, 25(7), 498-501. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(99\)80290-8](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(99)80290-8)

Carvalho, C. S., Pinto, M. S., Batista, S. F., Quelemes, P. V., Falcão, C. A., & Ferraz, M. A. (2020). Decontamination of Guta-percha Cones employed in Endodontics. Descontaminação de cones de guta-percha empregados em endodontia. *Acta odontologica latinoamericana*, 33(1), 45-49. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32621599/>

Dagli, N., Dagli, R., Mahmoud, R. S., & Baroudi, K. (2015). Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: A review. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 5(5), 335–340. <https://doi.org/10.4103/2231-0762.165933>

Del Fabbro, M., Corbella, S., Sequeira-Byron, P., Tsesis, I., Rosen, E., Lolato, A., & Taschieri, S. (2016). Endodontic procedures for retreatment of periapical lesions. *The Cochrane database of systematic reviews*, 10(1), 1-69. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005511.pub3>

Del Fabbro, M., Samaranayake, L. P., Lolato, A., Weinstein, T., & Taschieri, S. (2014). Analysis of the secondary endodontic lesions focusing on the extraradicular microorganisms: an overview. *Journal of investigative and clinical dentistry*, 5(4), 245–254. <https://doi.org/10.1111/jicd.12045>

Dioguardi, M., Alovise, M., Crincoli, V., Aiuto, R., Malagnino, G., Quarta, C., Laneve, E., Sovereto, D., Lo Russo, L., Troiano, G., & Lo Muzio, L. (2020). Prevalence of the Genus *Propionibacterium* in Primary and Persistent Endodontic Lesions: A Systematic Review. *J. Clin. Med*, 9(3), 739. <https://doi.org/10.3390/jcm9030739>

Dioguardi, M., Di Gioia, G., Illuzzi, G., Arena, C., Caponio, V. C. A., Caloro, G. A., Zhurakivska, K., Adipietro, I., Troiano, G., & Lo Muzio, L. (2019). Inspection of the Microbiota in Endodontic Lesions. *Dentistry journal*, 7(2), 47. <https://doi.org/10.3390/dj7020047>

Dioguardi, M., Sovereto, D., Illuzzi, G., Laneve, E., Raddato, B., Arena, C., Caponio, V. C. A., Caloro, G. A., Zhurakivska, K., Troiano, G., & Lo Muzio, L. (2020). Management of Instrument Sterilization Workflow in Endodontics: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International journal of dentistry*, 2020,1-20. <https://doi.org/10.1155/2020/5824369>

Dos Reis-Prado, A. H., Abreu, L. G., Tavares, W. L. F., Peixoto, I. F. C., Viana, A. C. D., Oliveira, E. M. C., Bastos, J. V., Ribeiro-Sobrinho, A. P., & Benetti, F. (2021). Comparison between immediate and delayed post space preparations: a systematic review and meta-analysis. *Clinical oral investigations*, 25(2), 417-440. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03690-x>

Estrela, C., Silva, J. A., de Alencar, A. H. G., Leles, C. R., & Decurcio, D. A. (2008). Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*-a systematic review. *J. Appl. Oral Sci*, 16(6), 364–368. <https://doi.org/10.1590/s1678-77572008000600002>

Fabricius, L., Dahlén, G., Sundqvist, G., Happonen, R. P., & Möller, A. J. (2006). Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. *European journal of oral sciences*, 114(4), 278–285. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2006.00380.x>

Facklam, RR, Carvalho, MdGS e Teixeira, LM (2002). História, taxonomia, características bioquímicas e teste de susceptibilidade a antibióticos de enterococos. Em *The Enterococci* (eds MS Gilmore, DB Clewell, P. Courvalin, GM Dunny, BE Murray e LB Rice). <https://doi.org/10.1128/9781555817923.ch1>

Fedorowicz, Z., Nasser, M., Sequeira, M. Souza, R. F., Carter, B., & Heft, M. (2012). Irrigants for non-surgical root canal treatment in mature permanent teeth. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 9(1), 1465-1858. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008948.pub2>

Frough Reyhani, M., Rahimi, S., Fathi, Z., Shakouie, S., Salem Milani, A., Soroush Barhaghi, M. H., & Shokri, J. (2015). Evaluation of Antimicrobial Effects of Different Concentrations of Triple Antibiotic Paste on Mature Biofilm of *Enterococcus faecalis*. *Journal of dental research, dental clinics, dental prospects*, 9(3), 138–143. <https://doi.org/10.15171/joddd.2015.027>

George, S., Basrani, B., & Kishen, A. (2010). Possibilities of guta-percha-centered infection in endodontically treated teeth: an in vitro study. *Journal of endodontics*, 36(7), 1241-1244. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.03.024>

Georgiou, A. C., Crielaard, W., Ouwerling, P., McLean, W., Lappin, D. F., & van der Waal, S. V. (2020). The eral blood plasma and the metagenomic profiling of endodontic infections: influence of apical periodontitis on the concentration of inflammatory mediators in periphStudy design and protocol. *Contemporary clinical trials communications*, 21, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.conctc.2020.100686>

Gillen, B. M., Looney, S. W., Gu, L. S., Loushine, B. A., Weller, R. N., Loushine, R. J., Pashley, D. H., & Tay, F. R. (2011). Impact of the quality of coronal restoration versus the quality of root canal fillings on success of root canal treatment: a systematic review and meta-analysis. *Journal of endodontics*, 37(7), 895–902. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.04.002>

Gomes, B. P. F. A., Vianna, M. E., Matsumoto, C. U., Rossi, V., Zaia, A. A., Ferraz, C. C. R., & Souza Filho, F. J. (2005). Disinfection of guta-percha cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral*

radiology, and endodontics, 100(4), 512–517.
<https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2004.10.002>

Gomes, C. C., Camões I. C. G., Freitas, L. F., Pinto, S. S., Saraiva, S. M., & Sambati, S. (2010). Evaluation of sodium hypochlorite and chlorhexidine in disinfection guta-percha cones. *Rev Odont Univ Cidade de São Paulo*, 22(2), 94-103. Retrieved from http://arquivos.cruzeirosuleducacional.edu.br/principal/old/revista_odontologia/pdf/maio_agosto_2010/unicid_22_02_94_103.pdf

Goodman, A., Schilder, H., & Aldrich, W. (1974). The thermomechanical properties of guta-percha. II. The history and molecular chemistry of guta-percha. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*, 37(6), 954-961.
[https://doi.org/10.1016/0030-4220\(74\)90448-4](https://doi.org/10.1016/0030-4220(74)90448-4)

Gotkowska-Płachta A. (2021). The Prevalence of Virulent and Multidrug-Resistant Enterococci in River Water and in Treated and Untreated Municipal and Hospital Wastewater. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 18(563), 1-18.
<https://doi.org/10.3390/ijerph18020563>

Goyal, S., Khot, S. C., Ramachandran, V., Shah, K. P., & Musher, D. M. (2019). Bacterial contamination of medical providers' white coats and surgical scrubs: A systematic review. *American journal of infection control*, 47(8), 994–1001.
<https://doi.org/10.1016/j.ajic.2019.01.012>

Hammerum, A. M., Lester, C. H., & Heuer, O. E. (2010). Antimicrobial-resistant enterococci in animals and meat: a human health hazard?. *Foodborne pathogens and disease*, 7(10), 1137–1146. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0552>

Huang, S., Chen, N. N., Yu, V., Lim, H. A., & Lui, J. N. (2020). Long-term Success and Survival of Endodontic Microsurgery. *Journal of endodontics*, 46(2), 149–157.e4.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.10.022>

Hervé E, B., & Porte T, L. (2007). Enterococcus sp Parte II [Enterococcus sp. Part two]. *Revista chilena de infectologia : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectologia*, 24(4), 311–312. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182007000400009>

Ike Y. (2017). Pathogenicity of Enterococci. *Japanese journal of bacteriology*, 72(2), 189–211. <https://doi.org/10.3412/jsb.72.189>

Jakubovics, N., Greenwood, M., & Meechan, J. G. (2014). General medicine and surgery for dental practitioners: part 4. Infections and infection control. *British dental journal*, 217(2), 73–77. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2014.593>

Jhajharia, K., Parolia, A., Shetty, K. V., Mehta, L. K. (2015). Biofilm in endodontics: A review. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*. 5(1), 1-12. <http://10.4103/2231-0762.151956>

Kato, A. S., Cunha, R. S., da Silveira Bueno, C. E., Pelegri, R. A., Fontana, C. E., & de Martin, A. S. (2016). Investigation of the Efficacy of Passive Ultrasonic Irrigation Versus Irrigation with Reciprocating Activation: An Environmental Scanning Electron Microscopic Study. *Journal of endodontics*, 42(4), 659–663. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.01.016>

Kayaoglu, G., & Orstavik, D. (2004). Virulence factors of Enterococcus faecalis: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 15(5), 308–320. <https://doi.org/10.1177/154411130401500506>

Kayaoglu, G., Gürel, M., Omürlü, H., Bek, Z. G., & Sadik, B. (2009). Examination of guta-percha cones for microbial contamination during chemical use. *J. Appl. Oral Sci*. 17 (3), 244–247. <https://doi.org/10.1590/s1678-77572009000300022>

Küçükkaya Eren, S., & Parashos, P. (2019). Adaptation of mineral trioxide aggregate to dentine walls compared with other root-end filling materials: A systematic review. *Australian endodontic journal*, 45(1), 111–121. <https://doi.org/10.1111/aej.12259>

Lakhani, A. A., Sekhar, K. S., Gupta, P., Tejolatha, B., Gupta, A., Kashyap, S., Desai, V., & Farista, S. (2017). Efficacy of Triple Antibiotic Paste, Moxifloxacin, Calcium Hydroxide And 2% Chlorhexidine Gel In Elimination of *E. Faecalis*: An In vitro Study. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 11(1), ZC06–ZC09. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/22394.9132>

Leite, F. R. M., Nascimento, G. G., Demarco, F. F., Gomes, B. P. F. A., Pucci, C. R., & Martinho, F. C. (2015). Prevalence of treponema species detected in endodontic infections: systematic review and meta-regression analysis. *Journal of endodontics*, 41(5), 579–587. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.01.020>

Lins, R. X., Andrade, A. O., Junior, R. H., Wilson, M. J., Lewis, M. A., Williams, D. W., & Fidel, R. A. (2013). Antimicrobial resistance and virulence traits of *Enterococcus faecalis* from primary endodontic infections. *Journal of dentistry*, 41(9), 779–786. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.07.004>

Luddin, N., & Ahmed, H. M. (2013). The antibacterial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*: A review on agar diffusion and direct contact methods. *Journal of conservative dentistry*, 16(1), 9-16. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.105291>

Malmberg, L., Björkner, A. E., & Bergenholtz, G. (2016). Establishment and maintenance of asepsis in endodontics - a review of the literature. *Acta odontologica Scandinavica*, 74(6), 431–435. <https://doi.org/10.1080/00016357.2016.1195508>

Manfredi, M., Figini, L., Gagliani, M., & Lodi, G. (2016). Single versus multiple visits for endodontic treatment of permanent teeth. *The Cochrane database of systematic reviews*, 12(12), 1-65. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005296.pub3>

Manoil, D., Al-Manei, K., & Belibasakis, G. N. (2020). A Systematic Review of the Root Canal Microbiota Associated with Apical Periodontitis: Lessons from Next-Generation Sequencing. *Proteomics Clin. Appl.*, 14(3), 1-17. <https://doi.org/10.1002/prca.201900060>

Marion, J. J. C.; Duque, T. M.; Mioranza, D. L., & Souza, F. A. F. (2014). Análise da contaminação em cones de papel absorvente e sua influência no tratamento endodôntico. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, 68(4), 331-335. Retrieved from http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-52762014000400010&lng=es&nrm=iso&tlng=pt

Martins, J. N., Marques, D., Mata, A., & Caramês, J. (2014). Clinical efficacy of electronic apex locators: systematic review. *Journal of endodontics*, 40(6), 759–777. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.03.011>

Mello, F. W., Miguel, A. F. P., Ribeiro, D. M., Pasternak, B., Jr, Porporatti, A. L., Flores-Mir, C., Andrada, A. C., Garcia, L. F. R., & Dutra-Horstmann, K. L. (2019). The influence of apical extent of root canal obturation on endodontic therapy outcome: a systematic review. *Clinical oral investigations*, 23(5), 2005-2019. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02897-x>

Mezzomo, V. C., Werlang, A. C., Fornari, V. J., & Hartmann, M. S. M. (2017). Avaliação das soluções de Clorexidina e de Hipoclorito de Sódio na descontaminação de cones de gutta percha contaminados por *Enterococcus faecalis*. *Journal of Oral Investigations*, 6(2), 21-32. <https://doi.org/10.18256/2238-510X.2017.v6i2.1800>

Miller, C. H. (1996). Infection control. *Dent Clin North Am*, 40(2), 437-56. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8641531/>

Mohammadi Z. (2009). Systemic, prophylactic and local applications of antimicrobials in endodontics: an update review. *International dental journal*, 59(4), 175–186. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19774800/>

Moreira, M. S., Anuar, A., Tedesco, T. K., Dos Santos, M., & Morimoto, S. (2017). Endodontic Treatment in Single and Multiple Visits: An Overview of Systematic Reviews. *Journal of endodontics*, 43(6), 864–870. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.021>

Motta, P. G., Figueiredo, C. B. O., Maltos, S. M. M., Nicoli, J. R., Ribeiro Sobrinho, A. P., Maltos, K. L. M., & Carvalhais, H. P. M. (2001). Efficacy of chemical sterilization and storage conditions of gutta-percha cones. *International endodontic journal*, 34(6), 435–439. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2001.00412.x>

Nabeshima, C. K., Machado, M. E. L., Britto, M. L. B., & Pallotta, R. C. (2011). Effectiveness of different chemical agents for disinfection of gutta-percha cones. *Australian endodontic journal*, 37(3), 118–121. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2010.00256.x>

Nacif, M. C. A. M., Marceliano-Alves, M. F. V., Alves, F. R. F. (2017). Contamination of gutta-percha cones in clinical use by endodontic specialists and clinicians. *Rev Fac Odontol Univ Antioq*, 28(2): 327-340. <https://doi.org/10.17533/udea.rfo.v28n2a6> URL: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.rfo.v28n2a6>

Peng, L., Ye, L., Tan, H., & Zhou, X. (2007). Outcome of root canal obturation by warm gutta-percha versus cold lateral condensation: a meta-analysis. *Journal of endodontics*, 33(2), 106–109. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2006.09.010>

Picheansanthian, W., & Chotibang, J. (2015). Glove utilization in the prevention of cross transmission: a systematic review. *JBIR database of systematic reviews and implementation reports*, 13(4), 188–230. <https://doi.org/10.11124/jbistrir-2015-1817>

Pinto, D., Marques, A., Pereira, J. F., Palma, P. J., & Santos, J. M. (2020). Long-Term Prognosis of Endodontic Microsurgery-A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 56(9), 447. <https://doi.org/10.3390/medicina56090447>

Popovic, J., Gasic, J., Zivkovic, S., Petrovic, A., & Radicevic, G. (2010). Evaluation of biological debris on endodontic instruments after cleaning and sterilization procedures. *International endodontic journal*, 43(4), 336-341. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2010.01686.x>

Prada, I., Micó-Muñoz, P., Giner-Lluesma, T., Micó-Martínez, P., Collado-Castellano, N., & Manzano-Saiz, A. (2019). Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 24(3), 364-372. <https://doi.org/10.4317/medoral.22907>

Prado, M., Gusman, H., Gomes, B. P. F. A., & Simão, R. A. (2011). The importance of final rinse after disinfection of gutta-percha and Resilon cones. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 111(6), 21-24. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.01.014>

Resende, K. K. M., Neves, L. F., Nagib, L. R. C., Martins, L. J. O., & Costa, C. R. R. (2019). Educator and Student Hand Hygiene Adherence in Dental Schools: A

Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of dental education*, 83(5), 575–584. <https://doi.org/10.21815/JDE.019.060>

Rôças, I. N., & Siqueira Jr., J. F., (2012). Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *Journal of clinical microbiology*, 50(5), 1721–1724. <https://doi.org/10.1128/JCM.00531-12>

Rôças, I. N., Provenzano, J. C., Neves, M. A., & Siqueira, J. F., Jr (2016). Disinfecting Effects of Rotary Instrumentation with Either 2.5% Sodium Hypochlorite or 2% Chlorhexidine as the Main Irrigant: A Randomized Clinical Study. *Journal of endodontics*, 42(6), 943–947. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.03.019>

Rossi-Fedele, G., & Ahmed, H. M. Assessment of Root Canal Filling Removal Effectiveness Using Micro-computed Tomography: A Systematic Review. *J Endod.* 43(4), 520-526. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.12.008>

Ruksakiet, K., Hanák, L., Farkas, N., Hegyi, P., Sadaeng, W., Czumbel, L. M., Sang-Ngoen, T., Garami, A., Mikó, A., Varga, G., & Lohinai, Z. (2020). Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root Canal Disinfection: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of endodontics*, 46(8), 1032–1041. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.05.002>

Schaik, W., & Willems, R. J. (2010). Genome-based insights into the evolution of enterococci. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 16(6), 527–532. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03201.x>

Setzer, F. C., Kohli, M. R., Shah, S. B., Karabucak, B., & Kim, S. (2012). Outcome of endodontic surgery: a meta-analysis of the literature--Part 2: Comparison of endodontic microsurgical techniques with and without the use of higher magnification. *Journal of endodontics*, 38(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.09.021>

Oswaldo, L. Seabra P., & Siqueira, J. F., Jr (2010). Contamination of guta-percha and Resilon cones taken directly from the manufacturer. *Clinical oral investigations*, 14(3), 327–330. <https://doi.org/10.1007/s00784-009-0295-z>

Sharaf, N.F., & Alshareef, W. A. (2019). The Comparative Evaluation of the Post-Antimicrobial Effect of MTAD ® and 2% Chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* of Permanent Teeth with Necrotic Pulp. *Open Access Maced J Med Sci*, 7(19), 3270-3275. doi: 10.3889 / oamjms.2019.570

Shetty, M., Thulasidas, N., John, N., & Hegde, C. (2018). Microbial Analysis and Determination of Antibiotic Susceptibility of Dental Laboratory Equipments and Laboratory Attire. *Contemporary clinical dentistry*, 9(4), 607–612. https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_569_18

Silva, E. J. N. L., Rover, G., Belladonna, F. G., Herrera, D. R., De-Deus, G., & da Silva Fidalgo, T. K. (2019). Effectiveness of passive ultrasonic irrigation on periapical healing and root canal disinfection: a systematic review. *British dental journal*, 227(3), 228–234. <https://doi.org/10.1038/s41415-019-0532-z>

Silva, S., Alves, N., Silva, P., Vieira, T., Maciel, P., Castellano, L. R., Bonan, P., Velozo, C., & Albuquerque, D. (2019). Antibacterial Activity of *Rosmarinus officinalis*, *Zingiber officinale*, *Citrus aurantium bergamia*, and *Copaifera officinalis* Alone and in Combination with Calcium Hydroxide against *Enterococcus faecalis*. *BioMed research international*, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2019/8129439>

Siqueira Jr, J. F. (2015). Microbiologia Endodôntica. In: H. P. Lopes & J. F. Siqueira. (4ªEd), *Endodontia: biologia e técnica*. (pp. 70-86) Elsevier.

Souza, R. E., Souza, E. A., Sousa-Neto, M. D., & Pietro, R. C. (2003). In vitro evaluation of different chemical agents for the decontamination of gutta-percha cones. *Pesqui. Odontol. Bras*, 17(1), 75-77. <https://doi.org/10.1590/s1517-74912003000100014>

Subha, N., Prabhakar, V., Koshy, M., Abinaya, K., Prabu, M., & Thangavelu, L. (2013). Efficacy of peracetic acid in rapid disinfection of Resilon and gutta-percha cones compared with sodium hypochlorite, chlorhexidine, and povidone-iodine. *Journal of endodontics*, 39(10), 1261-1264. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.06.022>

Szymańska, J., & Sitkowska, J. (2013). Evaluation of activities aimed at preventing microbiological risks in dental practice. *Medycyna pracy*, 64(1), 11-17. <https://doi.org/10.13075/mp.5893/2013/0002>

Tennert, C., Fuhrmann, M., Wittmer, A., Karygianni, L., Altenburger, M. J., Pelz, K., Hellwig, E., & Al-Ahmad, A. (2014). New bacterial composition in primary and persistent/secondary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings. *Journal of endodontics*, 40(5), 670–677. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.10.005>

Tsisis, I., Blazer, T., Ben-Izhack, G., Taschieri, S., Del Fabbro, M., Corbella, S., & Rosen, E. (2015). The Precision of Electronic Apex Locators in Working Length Determination: A Systematic Review and Meta-analysis of the Literature. *Journal of endodontics*, 41(11), 1818–1823. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.08.012>

Van Schaik, W., & Willems, R. J. (2010). Genome-based insights into the evolution of enterococci. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 16(6), 527–532. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03201.x>

Vishwanath, V., & Rao, H. M. (2019). Guta-percha in endodontics - A comprehensive review of material science. *Journal of conservative dentistry: JCD*, 22(3), 216-222. https://doi.org/10.4103/JCD.JCD_420_18

Wald, R., Baumgartner, M., Urbantke, V., Stessl, B., & Wittek, T. (2017). Diagnostic accuracy of a standardized scheme for identification of *Streptococcus uberis* in quarter milk samples: A comparison between conventional bacteriological examination, modified Rambach agar medium culturing, and 16S rRNA gene sequencing. *Journal of dairy science*, 100(2), 1459–1466. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11786>

Wang, J., Jiang, Y., Chen, W., Zhu, C., & Liang, J. (2012). Bacterial flora and extraradicular biofilm associated with the apical segment of teeth with post-treatment apical periodontitis. *Journal of endodontics*, 38(7), 954–959. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.03.004>

Wauters, Georges, & Vaneechoutte, M. (2015). Approaches to the identification of aerobic Gram-negative bacteria. In J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller, K. C. Carroll, G. Funke, M. L. Landry, S. S. Richter, & D. W. Warnock (Eds.), *Manual of clinical microbiology* (11th ed., pp. 613–634). Washington, DC, USA: ASM Press.

Yüzbaşıoğlu, E., Saraç, D., Canbaz, S., Saraç, Y. S., & Cengiz, S. (2009). A survey of cross-infection control procedures: knowledge and attitudes of Turkish dentists. *J Appl Oral Sci*, 17(6), 565–569. <https://doi.org/10.1590/s1678-77572009000600005>

Zargar, N., Marashi, M. A., Ashraf, H., Hakopian, R., & Beigi, P. (2019). Identification of microorganisms in persistent/secondary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings: bacterial culture and molecular detection. *Iranian journal of microbiology*, 11(2), 120–128.

Zhang, C., Du, J., & Peng, Z. (2015). Correlation between *Enterococcus faecalis* and Persistent Intraradicular Infection Compared with Primary Intraradicular Infection: A Systematic Review. *Journal of endodontics*, 41(8), 1207–1213. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.04.008>

VII. ANEXOS

Anexo 1 - Pedido de autorização para realização do trabalho de projeto final do MIMD no laboratório de aulas de Microbiologia da Egas Moniz



Identificação do Estudante: Fabiano Labarba Barbosa - 114021

Título do Trabalho: Análise microbiana dos Cones de Gutta percha na Clínica Dentária Egas Moniz

Excelentíssima Professor Helena Barroso,

O aluno Fabiano Labarba Barbosa, vem por este meio solicitar o acesso ao laboratório de aulas de microbiologia para realização do projeto final do MIMD, para realização de investigação: Análise microbiana dos Cones de Gutta Percha na Clínica Dentária Egas Moniz

Aguardando a aprovação da comissão científica e da comissão de Ética, para cedência das instalações e do laboratório de acordo com o normal funcionamento do mesmo dentro de horário a estipular para cada projeto.

Atenciosamente, com os melhores cumprimentos,

Monte da Caparica, 11 de janeiro de 2021

Responsável pelo apoio as aulas práticas laboratoriais (APL)

Professor Helena Barroso

Anexo 2 - Autorização para execução do projeto final do MIMD pela comissão de Ética da Cooperativa de Ensino Superior Egas Moniz

Comissão de Ética EGAS MONIZ



Proc. Interno nº 950

Ex.mo Senhor
Fabiano Labarba Barbosa

Monte de Caparica, 25 de fevereiro de 2020.

Ex.mo Senhor,

Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado **“Análise Microbiana dos cones de guta percha na Clínica Dentária Egas Moniz”**, foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

Anexo 3 - Pedido de autorização para divulgação de Imagens / radiografias cedidas voluntariamente

Identificação do Estudante: Fabiano Labarba Barbosa - 114021

Título do Trabalho: Análise microbiana dos Cones de Gutta percha na Clínica Dentária Egas Moniz

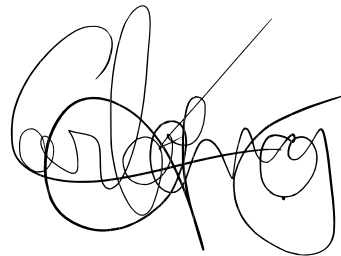
Excelentíssimo Professor Carlos Franco ,

Eu aluno Fabiano Labarba Barbosa, 114021, venho por este meio solicitar autorização para inclusão das radiografias cedidas por e-mail ao projeto final do MIMD, e possível artigo científico. para realização de investigação: Análise microbiana dos Cones de gutta percha na Clínica Dentária Egas Moniz.

Atenciosamente, com os melhores cumprimentos:

Monte da Caparica, 14 de julho de 2021

Eu. Carlos Daniel Inácio Franco - autorizo a divulgação das radiografias., por mim cedidas voluntariamente.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Carlos Daniel Inácio Franco', with a long horizontal stroke extending to the right.

Anexo 4 - Pedido de autorização de imagem da empresa Easy Odo

Pedido de autorização para divulgação de Imagens / radiografias cedidas voluntariamente

Identificação do Estudante: Fabiano Labarba Barbosa - 114021

Título do Trabalho: Análise microbiana dos Cones de Guta percha na Clinica Dentária Egas Moniz

Ao departamento de Marketing da Easy Odo ,

Eu Fabiano Labarba Barbosa, Cirurgião dentista CRO-35193, aluno de Mestrado Integrado em Medicina Dentária em Portugal pelo Instituto Universitário Egas Moniz , aluno 114021 , venho por este meio solicitar autorização para inclusão das imagens cedias por e-mail ao projeto final do MIMD, e possível artigo científico. para realização de investigação: Análise microbiana dos Cones de Guta percha na Clinica Dentária Egas Moniz.

Atenciosamente, com os melhores cumprimentos,

Monte da Caparica, 14 de julho de 2021

Eu. Almeida Martins - autorizo a divulgação das imagens., por mim cedidas voluntariamente.

Anexo 5 - Relatório de ensaios do meio de cultura



Relatório de Ensaios

Referência : MP020.1007

Produto : B.E.A. AGAR

Lote : 31K

Prazo de Validade : 2021-07-13

Data de Entrada : 2021-04-14

Período de Ensaios : 2021-04-14 a 2021-04-16

Colheita : Laboratório de preparação Data de Colheita : 2021-04-14

Relatório nº : 1007 31K

Requisitante : Laboratório de

Preparação de Meios de Cultura

Biogerm

Rua da Estrada 1060

4470-600 Crestins

Meios Base e Suplementos :

Nome	Marca	Referência	Lote	Validade
B.E.A. Agar	Biokar	Bk158HA	0040435	2024-10-05

Características Físicas :

	Resultado Teórico	Resultado	INC (k=2)	Método
pH :	7.1(+/-0.2) Unidades de pH	7.0 lido a 22°C	+/-2%	IT-DCM-04/V02
Textura :	Liso	Conforme		
Cor :	Ambar claro	Conforme		ISO 11133:2014*(a), EN12311:1999/A1*(b)
Consistência :	Espesso e homogêneo	Conforme		

Desempenho Microbiológico : Método ISO 11133:2014*(a), EN12311:1999/A1*(b)

	Resultado Esperado	Resultado	Método
Esterilidade :	Sem crescimento	Conforme	(a) (b)

Especificidade

Estirpe	Desempenho Teórico	Resultado	Método
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00009	Colónias negras	Conforme	(a) (b)

Seletividade

Estirpe	Desempenho Teórico	Resultado	Método
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	Inibição do crescimento	Conforme	(a) (b)

Recomendação (Armazenamento):

Conservar de 2° a 8°C

O ensaio assinalado com * não está incluído no âmbito da acreditação.

(a) Norma aplicável controlo da qualidade de meios de cultura para alimentos e produtos alimentares

(b) Norma aplicável controlo da qualidade de meios de cultura preparados INC (k=2) - Incerteza expandida para um intervalo de confiança de 95%

Amostragem não incluída no âmbito da acreditação.

Recomendação não incluída no âmbito da acreditação

Para informações adicionais consulte o Manual Biogerm

Este documento é considerado confidencial, não podendo ser reproduzido a não ser na íntegra, nem utilizado para fins publicitários sem a nossa autorização prévia.

Os resultados analíticos referem-se única e exclusivamente à amostra analisada.

A.Araújo

Director Controlo Qualidade de Meios de Cultura

BIOGERM, SA.

Rua da Estrada, 1060

4470-600 MOREIRA MAIA

Data de Emissão: 2021-04-16

Anexo 6 - Autorização de imagem da empresa FKG Swiss Endo Iberia SL

Informações FKG

 9  

Bom día Fabiano,

Conforme combinado, estou a te enviar algumas informações e material que tenho referente as nossas pontas de Guta-percha. Aproveito a oportunidade para te enviar uma breve apresentação da FKG (em espanhol), com a nossa gama e os principais produtos.

Lamento não poder te ajudar com mais informações.

Melhores cumprimentos.

Carlos GARCIA VAZQUEZ
c.garcia@fkgiberia.com | M +34 601 61 74 89

FKG Swiss Endo Iberia SL
Toronga 25 1º-D | 28043 Madrid | Spain
T +34 910 889 695 | fkgiberia.com

Síguenos en [Facebook](#) & [Instagram](#)!

[¡Conoce las 3 soluciones de clase mundial ofrecidas por FKG!](#)

