



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
CURSO DE ODONTOLOGIA**

RODRIGO QUEIROGA DE MOURA

**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA SOBRE *Enterococcus faecalis*: ESTUDO
IN VITRO**

**CAMPINA GRANDE
2019**

RODRIGO QUEIROGA DE MOURA

**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA SOBRE *Enterococcus faecalis*: ESTUDO
IN VITRO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento do Curso de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharelado em odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro Gomes.

**CAMPINA GRANDE
2019**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

M929e Moura, Rodrigo Queiroga de.
Efeito da terapia fotodinâmica sobre *Enterococcus faecalis*
[manuscrito] : Estudo *in vitro* / Rodrigo Queiroga de Moura. -
2019.
30 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em
Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de
Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.
"Orientação : Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro
Gomes, Coordenação do Curso de Odontologia - CCBS."
1. Terapia fotodinâmica. 2. Endodontia. 3. *Enterococcus*
faecalis. 4. Análise microbiológica. I. Título
21. ed. CDD 617.634 2

RODRIGO QUEIROGA DE MOURA

**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA SOBRE *Enterococcus faecalis*: ESTUDO
IN VITRO**


Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento do Curso de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharelado em odontologia.

Aprovado em: 18/06/2019


BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro Gomes (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Me. Robeci Alves Macêdo Filho
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Ma. Isabella Jardelino Dias
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Aos meus pais, à minha irmã, meus tios e meus avós que sempre me deram apoio, seja físico, emocional ou psicológico para ver a minha felicidade simbolizada em um sorriso,
DEDICO.

“Eu vivo, mas já não sou eu; é Cristo que vive em mim. A minha vida presente, na carne, eu a vivo na fé no Filho de Deus, que me amou e se entregou por mim.”

Gálatas 2:20 – Bíblia Sagrada

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Grupos experimentais e controle do estudo.....	13
Figura 1 – Esquema representativo da distribuição dos grupos e controle.....	13
Quadro 2 – Características da fonte de luz utilizada.....	14
Figura 2 – Distribuição dos grupos analisados na microplaca de 96 poços.....	15
Figura 3 – Preparo do inóculo bacteriano para a análise dos respectivos grupos experimentais.....	16
Quadro 3 – Formulação do fotossensibilizador Azul de Metileno.....	16
Figura 4 – Irradiação com Laser de Diodo no Grupo 3.....	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atividade antibacteriana frente à *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) expressa em Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL)... 18

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
HC	Hidróxido de Cálcio
LABDEM	Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos
LEDs	Luzes Emissoras de Diodo
SCR	Sistema de Canais Radiculares
TFD	Terapia Fotodinâmica
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFC	Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	MATERIAS E MÉTODOS	12
2.1	Delineamento da Pesquisa	12
2.2	Local do Estudo	12
2.3	Micro-Organismos e Inóculo Microbiano	12
2.4	Distribuição dos Grupos	13
2.5	Análise antibacteriana	14
2.6	Análise Estatística	17
3	RESULTADOS	17
4	DISCUSSÃO	18
5	CONCLUSÕES	19
	REFERÊNCIAS	19
	ANEXO A – Normas da Revista Pharmaceutical Biology	

EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA SOBRE *Enterococcus faecalis*: ESTUDO IN VITRO

Rodrigo Queiroga de Moura*
Daliana Queiroga de Castro Gomes**

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, o efeito da Terapia Fotodinâmica sobre *Enterococcus faecalis*. Foram utilizadas cepas padrão de *Enterococcus faecalis*, e o inóculo microbiano foi padronizado em espectrofotômetro de modo a obter uma absorbância a 5×10^5 UFC/mL. Para o preparo do inóculo, 50µL do estoque bacteriano foi reativado em 5mL de *Brain Heart Infusion*, e o equivalente a uma alça de platina desse caldo de bactérias foi repicado. Após isso, coletou-se uma alíquota de 300 µL e adicionou-se em 4mL de BHI. Os ensaios foram dispostos em três grupos: Grupo 1 – Controle Negativo, Grupo 2 – Controle Positivo e o Grupo 3 – TFD. O Controle Positivo foi testado nas concentrações de 2mg/mL, 1mg/mL e 0,5mg/mL. No grupo da TFD, adicionou-se 80µL do corante Azul de Metileno manipulado a 0,1% com tempo de pré-irradiação de cinco minutos para posterior irradiação com o Laser Diodo de baixa potência (InGaAlP, comprimento de onda de 660nm, potência de 100mW, energia de 6J, dose de 214 J/cm², área de spot de 0,028 cm²). Para avaliação dos resultados, realizou-se análise pelo Teste de *Tukey* e ANOVA. Os dados evidenciaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p < 0,001$), com menor contagem de micro-organismos para o Grupo 3, seguida pelo Grupo 2 e pelo Grupo 1, com médias de 7,46; 8,71; 8,77, respectivamente. O estudo sugere que a TFD é um meio eficaz para redução do potencial bacteriano de *E. faecalis*.

Palavras-chave: *Enterococcus faecalis*. Terapia Fotodinâmica. Endodontia. Análise Microbiológica.

* Graduando de Odontologia pela Universidade Estadual da Paraíba – UEPB,
roqueirogam@gmail.com

** Professora Doutora do Departamento de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB,
dqcgomes@hotmail.com.

EFFECT OF PHOTODYNAMIC THERAPY ON *Enterococcus faecalis*: AN *IN VITRO* STUDY

Rodrigo Queiroga de Moura^{*}
Daliana Queiroga de Castro Gomes^{**}

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate, *in vitro*, the effect of Photodynamic Therapy on *Enterococcus faecalis*. Standard strains of *Enterococcus faecalis* were used, and the microbial inoculum was standardized in a spectrophotometer in order to obtain an absorbance at 5×10^5 CFU / mL. To prepare the inoculum, 50 μ L of the bacterial stock was reactivated in 5 mL of Brain Heart Infusion, and the equivalent of a platinum loop of this bacterial broth was recovered. After that, a 300 μ L aliquot was collected and added in 4 mL of BHI. The trials were arranged in three groups: Group 1 - Negative Control, Group 2 - Positive Control and Group 3 - PDT. Positive Control was tested at concentrations of 2 mg / mL, 1 mg / mL and 0.5 mg / mL. In the PDT group, 80 μ L of the 0.1% methylene blue dye with a five minute pre-irradiation time was added for further irradiation with the low-power Laser Diode (InGaAlP, 660 nm wavelength, 100mW, energy of 6J, dose of 214 J / cm², spot area of 0.028 cm²). For the evaluation of the results, the Tukey's test and ANOVA were analyzed. The data showed statistically significant differences between the groups ($p < 0.001$), with a lower microorganism count for Group 3, followed by Group 2 and Group 1, with a mean of 7.46; 8.71; 8.77, respectively. The study suggests that PDT is an effective means to reduce the bacterial potential of *E. faecalis*.

Keywords: *Enterococcus faecalis*. Photodynamic Therapy. Endodontics. Microbiological Analysis.

* Student of Dentistry at State University of Paraíba, roqueirogam@gmail.com

** *PhD*, Department of Dentistry of the State University of Paraíba, dqcgomes@hotmail.com.

1 INTRODUÇÃO

Um dos maiores desafios da terapia endodôntica é a remoção do tecido pulpar necrótico e seus debris, bem como a redução da população microbiana do sistema de canais radiculares (SCR) (ESLAMI, 2019). Convencionalmente, algumas medidas têm sido adotadas para erradicar a colonização bacteriana do interior do SCR, incluindo a remoção químico-mecânica (por meio de instrumentos e irrigação com soluções antimicrobianas) e utilização de medicações intracanais (XU *et al.*, 2019). No entanto, as técnicas tradicionais não conseguem prover a eliminação completa de todos os micro-organismos (DIOGO *et al.*, 2017, TOKUC; OZALP; TOPCUOGLU; KULEKCI, 2019).

A falha do tratamento endodôntico é avaliada pela presença de sinais e sintomas e, dos achados imaginológicos do dente tratado. Essas características permitem avaliar a ausência de dor, o desaparecimento de processos inflamatórios e fístulas e completa cura periapical com neoformação óssea (PRADA *et al.*, 2019).

A permanência de patógenos específicos no interior do canal radicular tem potencial associado ao fracasso da terapia endodôntica. Isso, então, impossibilita a cura dos tecidos periapicais e aumenta a severidade do quadro mórbido (LACERDA *et al.*, 2016).

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) é apontada, em estudos de análise microbiológica, como sendo uma das principais espécies que colonizam o SCR em situações nas quais houve falha do tratamento endodôntico e que foi apresentado quadros de infecções secundárias e persistentes (SAKKO; TJÄDERHANE; RAUTEMAA-RICHARDSON, 2016, PEREIRA *et al.*, 2017). *E. faecalis* merece atenção pois é uma bactéria gram-positiva, anaeróbia facultativa e que faz parte da microbiota do trato gastrointestinal, sendo encontrada na cavidade bucal por meio da ingestão de comidas contaminadas (DIOGUARDI *et al.*, 2019).

O mecanismo que sucede a penetração de *E. faecalis* no interior do SCR ainda não é compreendido, mas sabe-se que a patogenicidade desse micro-organismo é atribuída pelo fato de conseguir se adaptar frente às condições adversas, como longos períodos sem nutrição e conseguir sobreviver em pH alcalino; capacidade de invadir os túbulos dentinários e crescimento na forma de biofilme ou colônia única (LACERDA *et al.*, 2016, CAMACHO-ALONSO; JULIÁN-BELMONTE; CHIVA-GARCÍA; MARTÍNEZ-BENEYTO, 2017, KERMEOGLU *et al.*, 2018, DIOGUARDI *et al.*, 2019).

Os princípios de limpeza e modelagem do canal são capazes de reduzir a microbiota existente no interior de dentes infectados, mas não são capazes de dispor de uma completa antisepsia, sendo indicada a complementação da desinfecção com medicações intracanais (ZANCAN *et al.*, 2016). O hidróxido de cálcio (HC) continua sendo a medicação intracanal mais utilizada por dispor da liberação de íons hidroxila que leva a desnaturação proteica e, conseqüentemente, a destruição citoplasmática e DNA de bactérias, além de elevar o pH do meio tornando-o alcalino (SIQUEIRA JR; LOPES, 1999, ZANCAN *et al.*, 2016).

Todavia, a ação do HC sobre *E. faecalis* continua a ser questionada, tendo em vista as propriedades de sobrevivência inerentes a esse micro-organismo (LOUWAKUL; SAELO; KHEMALEELAKUL, 2017). Entretanto, acredita-se que o mecanismo que induz resistência à *E. faecalis* pelo HC é explicado de modo que, com a elevação do pH, tal espécie sofria estresse e forçava-a a sintetizar proteínas que debelassem tal condição, criando uma bomba de prótons para acidificar o

citoplasma e garantir a vitalidade celular (EVANS; DAVIES; SUNDQVIST; FIGDOR, 2002).

Buscando a resolutividade dessa particularidade, métodos avançados de desinfecção são necessários para a erradicação de biofilmes resistentes às terapias convencionais (DIOGO *et al.*, 2017). Desta forma, destaca-se a Terapia Fotodinâmica (TFD) como uma técnica auxiliar que combina a aplicação do laser de baixa potência na presença de uma substância química fotossensível. À irradiação, as moléculas fotossensibilizadoras são excitadas e culminam na formação de oxigênio singlete e outros produtos secundários que são capazes de gerar danos celulares sobre a microbiota (SILVA *et al.*, 2016; HSIEH *et al.*, 2018). Trata-se, portanto, de uma terapia indolor, localizada e que não induz resistência microbiana (FREITAS, 2015).

Existem três principais fontes de luz utilizadas na TFD: os lasers, as luzes emissoras de diodo (LEDs) e as lâmpadas halógenas. Dentre elas, a melhor fonte de luz para a realização da TFD é à base de laser, uma vez que apresenta características próprias como emissão estimulada da luz; pico de ativação do fotossensibilizador compatível ao espectro de saída da potência do laser; coerência das ondas na mesma frequência; luz em direção única; ação colimadora, que torna o comprimento de onda específico e incapaz de sofrer alterações que comprometam o tratamento e dispõe da possibilidade de acoplamento de fibra óptica. Esses atributos concedem ao laser uma melhor eficácia do tratamento e um melhor aproveitamento da luz irradiada (NAGATA *et al.*, 2012).

O fotossensibilizador Azul de Metileno é o mais conhecido, cuja máxima absorção ocorre em 664nm, o qual opta-se, para a realização da TFD, os lasers de baixa potência por apresentar comprimento de onda coincidente. Seu caráter catiônico permite que este interaja com grupamentos aniônicos presentes na superfície dos micro-organismos, deixando-o por um tempo o qual ocorre a interação, que é chamado de “pré-irradiação” (EDUARDO *et al.*, 2015).

Nesse contexto, é fato que o mecanismo de desinfecção da TFD sobre *E. faecalis* não está todo elucidado e, assim, necessita de mais estudos para a sua explicação. Com base nisso, este trabalho objetivou a avaliação, *in vitro*, do efeito da TFD sobre *Enterococcus faecalis*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Delineamento da Pesquisa

Esta pesquisa é do tipo experimental laboratorial, *in vitro*, com observação direta sobre o efeito da TFD frente à patogenicidade de *E. faecalis*.

2.2 Local do Estudo

O estudo foi realizado no setor de microbiologia do Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

2.3 Micro-Organismos e Inóculo Microbiano

Foram utilizadas cepas padrão de *Enterococcus faecalis* (American Type Culture Collection – ATCC – 29212) cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, Brasil), disponíveis no setor de microbiologia do LABDEM da UEPB.

O inóculo microbiano foi padronizado em espectrofotômetro no comprimento de onda de 625nm de modo a obter uma absorbância de 0,08 a 0,10, de acordo com as normas do documento M07-A9 (CLSI, 2012), correspondendo a 5×10^5 UFC/mL.

Para o preparo do inóculo, 50µL do estoque bacteriano congelado com glicerol 20% foi reativado em 5mL de *Brain Heart Infusion* (BHI), deixado por 18 horas em estufa a 37°C. Após 18 horas, o equivalente a uma alça de platina desse caldo de bactérias foi repicado em BHI ágar, de modo à observação de contaminação ao final de 24 horas de incubação a 37°C. Não havendo contaminação, 5-10 colônias isoladas da placa foram reativadas em 10mL de BHI e levadas novamente a estufa por 18 horas a 37°C. Após esse período, desse caldo contendo bactérias, coletou-se uma alíquota de aproximadamente 300 µL e adicionou-se em 4mL de BHI. O conteúdo desse tubo foi levado ao espectrofotômetro com comprimento de onda 625nm, abs 0,08-0,1. Quando o intervalo de absorbância foi atingido, obteve-se um inóculo com concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL que foi diluído em caldo BHI a fim de obter a concentração final nas microplacas de $0,5 \times 10^6$ UFC/mL que é igual a 5×10^5 UFC/mL.

2.4 Distribuição dos Grupos

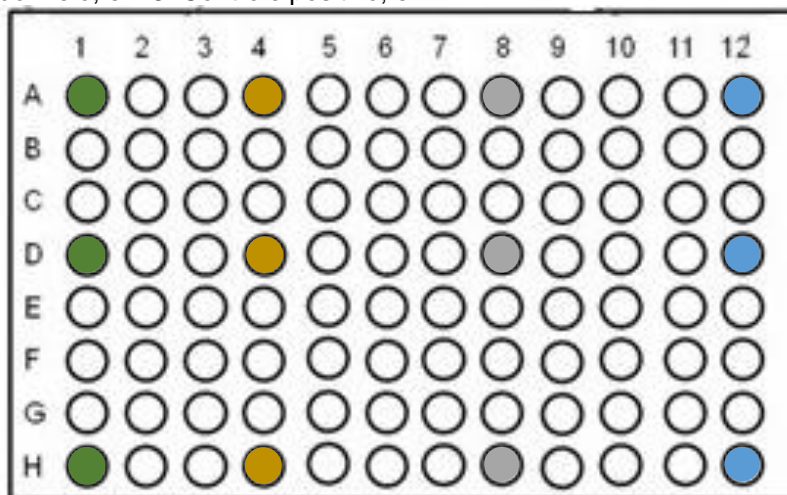
A partir das suspensões padronizadas de *E. faecalis* foram realizados ensaios com os grupos experimentais e controle de acordo com o Quadro 1.

Quadro 1. Grupos experimentais e controle do estudo.

GRUPO	INTERVENÇÃO
1	Controle Negativo (controle de crescimento)
2	Controle Positivo (Hidróxido de Cálcio)
3	TFD (Terapia Fotodinâmica)

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Fig. 1. Esquema representativo da distribuição dos grupos e controle. Em 1: Controle negativo; em 4: controle de esterilidade do meio; em 8: Controle positivo; em 12: TFD.



Fonte: Embrapa, 2019. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/>

A fonte de luz utilizada foi o Laser InGaAIP *Therapy XT* (DMC Importação e Exportação de Equipamentos Ltda, São Carlos, SP, Brasil), com comprimento de onda (λ) de 660 nm. O feixe de luz vermelho foi incidido com potência útil de 100 mW em uma área de spot correspondendo a 0,028 cm², resultando em uma dose aproximada de 214 J/cm² durante cada aplicação. A energia total foi de 6,0 J, com altura do poço 0,5 cm das células bacterianas presentes nos poços. A emissão do laser foi contínua com modo de operação pontual e aplicação perpendicular aos poços. As características da fonte de luz utilizada é descrita conforme o Quadro 2.

Quadro 2. Características da fonte de luz utilizada.

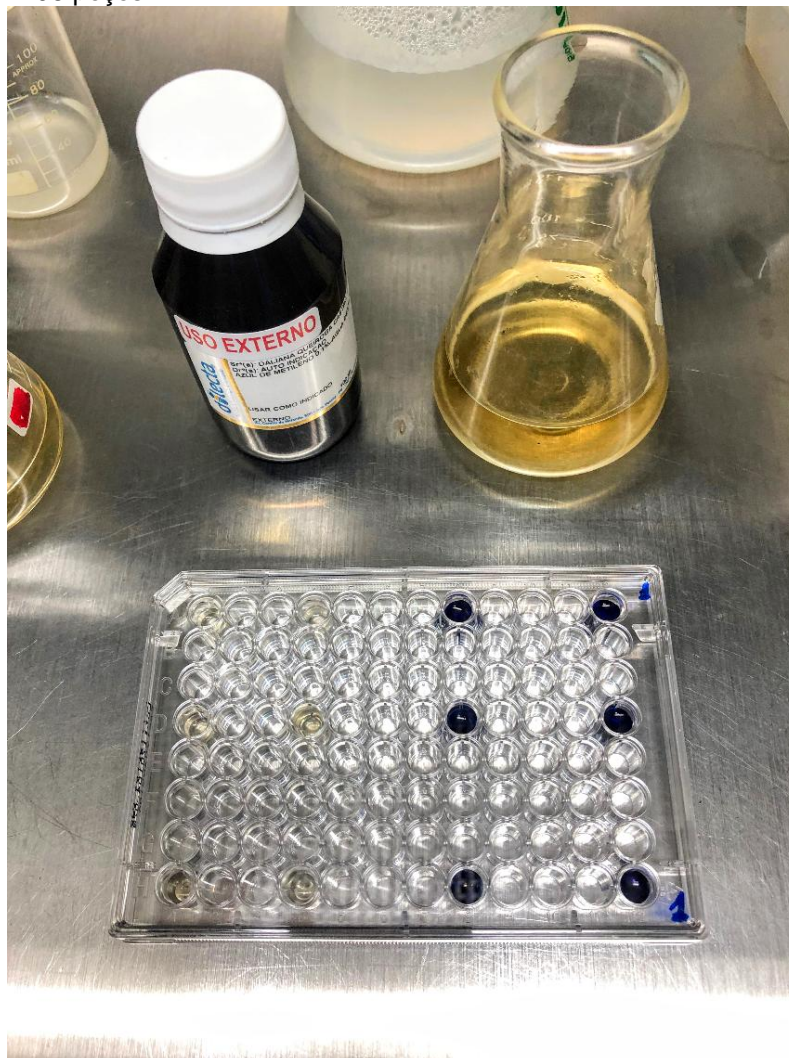
Composição	InGaAIP
Energia	6,0 J
Comprimento de onda	660 nm
Potência	100 mW
Modo de ação	Contínuo
Diâmetro da ponta	0,028 cm ²
Dose	214 J/cm ²
Tempo	60 s
Aplicação	Perpendicular

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

2.5 Análise antibacteriana

Foram utilizadas microplacas de 96 poços estéreis (CRAL artigos para laboratório LTDA, Cotia, SP, Brasil) nas quais os grupos experimentais e controles pré-estabelecidos foram dispostos fisicamente separados entre si, a fim de evitar a possibilidade de sobre-exposição de irradiação entre os grupos submetidos ao laser, como também qualquer absorção mínima pelos demais (Figura 3). Além disso, um anteparo plástico da cor preta foi colocado para impedir a passagem de luz para os outros poços e evitar sobre-exposição.

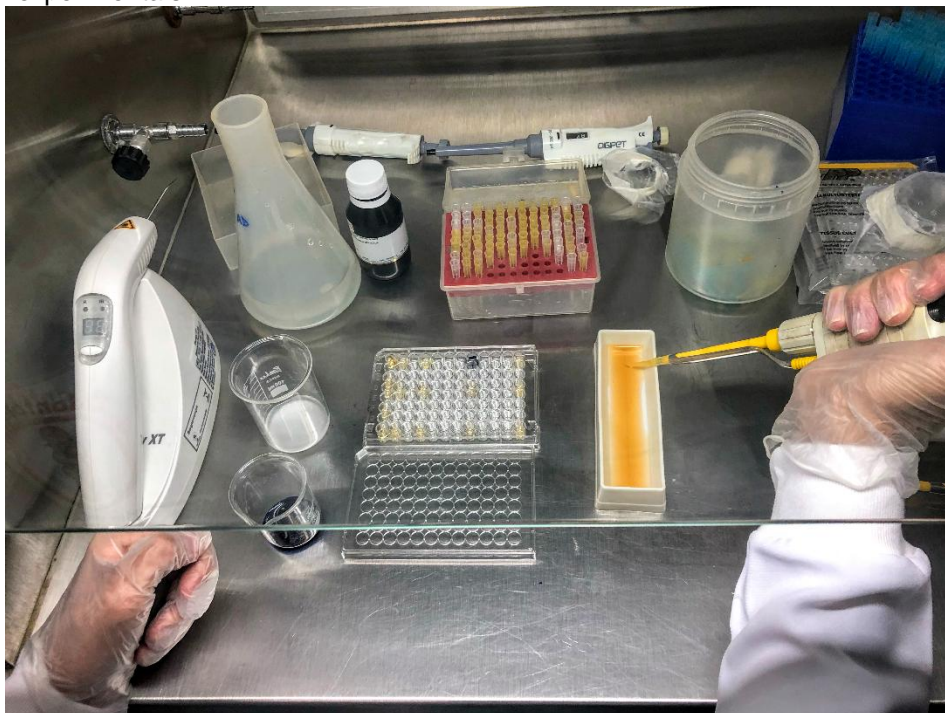
Fig. 2. Distribuição dos grupos analisados na microplaca de 96 poços.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Inicialmente, para todos os grupos, foram inseridos 100 μ L de meio de cultura estéril (BHI para *E. faecalis*) e 20 μ L do inóculo bacteriano. Foram realizados controle de crescimento microbiano inserindo apenas meio de cultura caldo estéril nos poços e a respectiva alíquota de inóculo microbiano, controle de esterilidade do meio caldo, e controle positivo com Hidróxido de Cálcio diluído em água destilada a 4mg/mL (Figura 4).

Fig. 3. Preparo do inóculo bacteriano para a análise dos respectivos grupos experimentais.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

O controle positivo com HC foi testado nas concentrações de 2mg/mL, 1mg/mL e 0,5mg/mL.

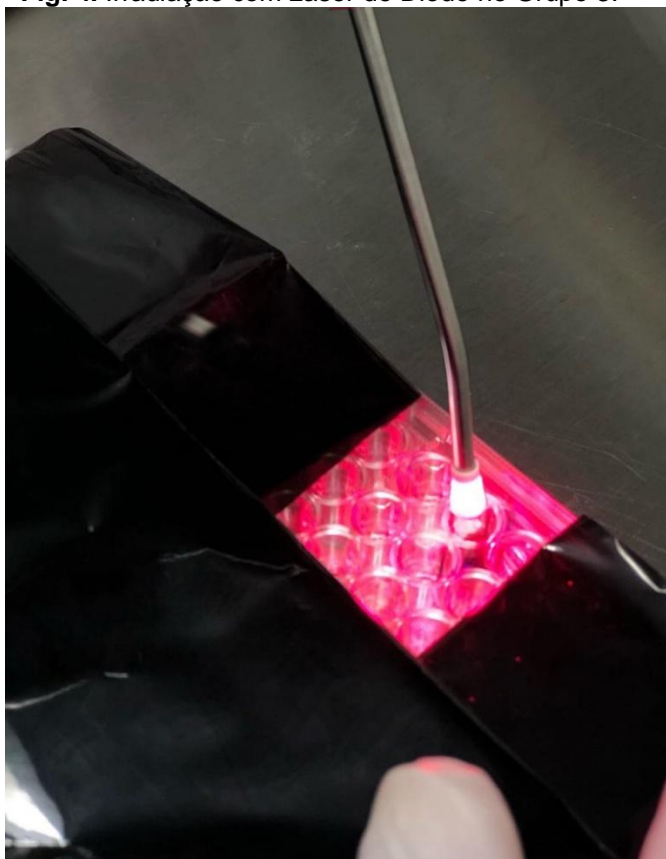
No Grupo 3, após a inserção do meio de cultura e do inóculo, foi adicionado 80µL do corante Azul de Metileno manipulado a 0,1% (Quadro 3), cujo grupo recebeu o volume da substância inserido em cada poço da triplicata perdurando por um tempo de pré-irradiação de cinco minutos e, após isso, cada poço foi irradiado com o Laser Diodo (Figura 5).

Quadro 3. Formulação do fotossensibilizador Azul de Metileno.

Produto	Concentração	Função
Azul de Metileno	0,1%	Ativo
Metilparabeno	0,2%	Conservante
Propilparabeno	0,2%	Conservante
Água purificada pelo método osmose reversa qsp	100%	Veículo

Fonte: Segundo informações da Farmácia de Manipulação DILECTA, 2019.

Fig. 4. Irradiação com Laser de Diodo no Grupo 3.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

A distância entre os poços que receberam irradiação laser foi de, aproximadamente, 7,0 cm. O objetivo desse espaçamento foi respeitar os limites visíveis da irradiação e impedir que a aplicação do laser em um grupo influenciasse o adjacente.

Os testes foram realizados em triplicata e em capela de fluxo laminar.

2.6 Análise Estatística

O pressuposto de normalidade dos dados foi avaliado por meio do teste de Shapiro-Wilk. O teste ANOVA foi realizado para comparar a quantidade de Unidades Formadoras de Colônias – UFC (expressas em valores numéricos de log₁₀), seguido do teste de *Tukey* para comparações múltiplas de médias. O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$ (LARSON; FARBER, 2016). Todas as análises foram conduzidas usando o *software* IBM SPSS versão 20.0 e considerando um intervalo de confiança de 95%.

3 RESULTADOS

Os dados evidenciaram diferenças estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,001$), com menor contagem de micro-organismos para o Grupo 3, seguida pelo Grupo 2 e pelo Grupo 1, com médias de 7,46; 8,71; 8,77, respectivamente.

Tabela 1. Atividade antibacteriana frente à *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) expressa em Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL).

Variáveis	UFC/mL (log10)	
	M	DP
Grupo		
G1 (controle negativo)	8,77 ^A	0,02
G2 (HC em forma pura)	8,71 ^B	0,02
G3 (TFD)	7,46 ^C	0,01
ANOVA (<i>p</i> -valor < 0,001)		

Nota. M = média; DP = desvio-padrão; Letras diferentes denotam resultados significativamente diferentes ao nível de $p < 0,05$.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

4 DISCUSSÃO

Neste trabalho, observou-se que a TFD utilizada como meio indutor de morte das cepas de *E. faecalis* foi o tratamento que mais conseguiu destruir as colônias bacterianas, apresentando uma grande redução na sua quantidade. Esse resultado encontrado está de acordo com outros estudos *in vitro*, os quais, avaliando a eficácia da TFD frente à *E. faecalis*, observaram expressiva redução nas colônias do patógeno em questão (FOSCHI *et al.*, 2007, WANG; HUANG, 2014, PRAZMO; GODLEWSKA; MIELCZAREK, 2017, CAMACHO-ALONSO; JULIÁN-BELMONTE; CHIVA-GARCÍA; MARTÍNEZ-BENEYTO, 2017).

Outras análises *in vivo*, como as realizadas no estudo de Ahangari *et al.* (2017), e *ex-vivo*, como a de Eslami (2019), mostraram que, utilizando a TFD, houve morte bacteriana com superioridade significativa ao grupo que apenas usou o HC. Já no ensaio clínico de Asnaashari, Ashraf, Rahmati e Amini (2017) houve uma leve diferença entre a morte induzida por TFD e por HC, mesmo estando a TFD com potencial maior de destruição.

O micro-organismo *E. faecalis* foi utilizado neste estudo por se tratar de uma bactéria frequentemente associada com casos de infecção secundária e persistente e, além disso, apresenta propriedades que a tornam tão resistente aos meios utilizados para descontaminação do SCR. Dentre elas, destaca-se a sua alta capacidade de penetração nos túbulos dentinários e sua aptidão na formação de biofilmes organizados e resistentes (ASNAASHARI; ASHRAF; RAHMATI; AMINI, 2017). Como tal, outras pesquisas também utilizaram essa espécie para a verificação do efeito da TFD sobre ela (FOSCHI *et al.*, 2007, MIRANDA *et al.*, 2013, ASNAASHARI *et al.*, 2016, AHANGARI *et al.*, 2017, ASNAASHARI; ASHRAF; RAHMATI; AMINI, 2017, ESLAMI, 2019, MISBA; ABDULRAHMAN; KHAN, 2019).

Nesta pesquisa, a eficácia do HC foi avaliada mediante concentrações variadas dele frente à patogenicidade de *E. faecalis*, o qual mostrou redução na quantidade de colônias bacterianas existentes. Alguns estudos, como o de Louwakul, Saelo e Khemaleelakul (2017) sugeriram que o HC, em sua forma pura, é incapaz de promover a morte de *E. faecalis*; fato que também está de acordo com outros estudos, os quais, buscando testar o potencial antibacteriano do HC contra *E. faecalis*, mostraram pouca indução de morte do micro-organismo quando em comparação com grupos que sofreram outras intervenções (LOUWAKUL; SAELO; KHEMALEELAKUL, 2017, ASNAASHARI; ASHRAF; RAHMATI; AMINI, 2017, RABELLO *et al.*, 2017).

Misba, Abdulrahman e Khan (2019) afirmaram que o tratamento endodôntico atual apresenta limitações no que diz respeito à eliminação do biofilme existente no

interior do canal radicular. Além disso, propuseram também que a resistência de muitos micro-organismos levou à necessidade urgente de utilizar uma técnica alternativa que não proporcione resistência da microbiota, sugerindo, então, a TFD como um tratamento auxiliar no combate às infecções e por atuar seletivamente nas células-alvo enquanto não danifica as células adjacentes.

O comprimento de onda é uma particularidade importante a ser evidenciada quando da realização da TFD para morte microbiana. Asnaashari *et al.* (2016) ratificaram essa informação, visto que propuseram, em seu estudo, uma eficácia maior para a destruição de *E. faecalis* quando o comprimento de onda situa-se próximo a 630nm. Neste estudo, o comprimento de onda da fonte de luz utilizada foi de 660nm, o qual apresentou elevada morte microbiana, estando de acordo também com o estudo de Foschi *et al.* (2007).

O fotossensibilizador também é um importante item dentro da TFD, uma vez que ele se acoplará às células-alvo para, então, promover a morte microbiana. Nesta análise, o fotossensibilizador usado foi o azul de metileno a 0,1%, concordando com outros estudos que também o adotaram como corante para a realização da TFD, demonstrando uma potencial destruição da mesma espécie bacteriana aqui estudada (FOSCHI *et al.*, 2007, MIRANDA *et al.*, 2013, ASNAASHARI *et al.*, 2016, AHANGARI *et al.*, 2017).

Como foi visto em vários estudos utilizando a TFD, houve uma expressiva redução na quantidade de *E. faecalis*. Assim sendo, pode-se afirmar que a TFD é uma terapia complementar de outros meios para que se possa estender e aumentar o grau de desinfecção do SCR e proporcionar longevidade do procedimento endodôntico. É necessário que estudos clínicos sejam realizados para que se possa conhecer e padronizar a TFD como sendo uma terapia da vivência odontológica.

5 CONCLUSÕES

O presente estudo sugere que a TFD é um meio eficaz quando da redução do potencial bacteriano de *E. faecalis*, podendo ser tomada como meio indutor coadjuvante para a destruição microbiana.

O HC em sua forma pura apresentou diminuição na quantidade de cepas existentes.

Por conseguinte, propõe-se, segundo mimetização no meio laboratorial, que a TFD é eficaz como auxiliar dos meios físicos e químicos utilizados no preparo do canal radicular para descontaminar o conteúdo séptico do seu interior.

REFERÊNCIAS

AHANGARI, Z. *et al.* Comparison of the antimicrobial efficacy of calcium hydroxide and photodynamic therapy against enterococcus faecalis and candida albicans in teeth with periapical lesions: An in vivo study. **Journal of Lasers in Medical Sciences**, Teerã, v. 8, n. 2, p. 72–78, 2017.

ASNAASHARI, M. *et al.* A comparison of the antibacterial activity of the two methods of photodynamic therapy (using diode laser 810 nm and LED lamp 630 nm) against Enterococcus faecalis in extracted human anterior teeth. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Amsterdam, v. 13, p. 233–237, 2016.

ASNAASHARI, M.; ASHRAF, H.; RAHMATI, A.; AMINI, N. A comparison between effect of photodynamic therapy by LED and calcium hydroxide therapy for root canal disinfection against *Enterococcus faecalis*: A randomized controlled trial.

Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, Amsterdam, v. 17, p. 226–232, 2017.

CAMACHO-ALONSO, F.; JULIÁN-BELMONTE, E.; CHIVA-GARCÍA, F.; MARTÍNEZ-BENEYTO, Y. Bactericidal Efficacy of Photodynamic Therapy and Chitosan in Root Canals Experimentally Infected with *Enterococcus faecalis*: An *In Vitro* Study.

Photomedicine and Laser Surgery, Larchmont, v. 35, n. 4, p. 184–189, 2017.

DIOGO, P. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy against endodontic *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* mono and mixed biofilms in the presence of photosensitizers: A comparative study with classical endodontic irrigants. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, p. 1–11, 2017.

DIOGUARDI, M. *et al.* Inspection of the Microbiota in Endodontic Lesions. **Dentistry Journal**, Basileia, v. 7, n. 2, p. 47, 2019.

EDUARDO, C. *et al.* A terapia fotodinâmica como benefício complementar na clínica odontológica. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas**, São Paulo, v. 69, n. 3, p. 226–235, 2015.

ESLAMI, M. The comparison of intracanal medicaments, diode laser and photodynamic therapy on removing the biofilm of *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* in the root canal system (ex-vivo study). **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Amsterdã, v. 26, p. 157–161, 2019.

ESTRELA, C. *et al.* Influência de estratégias de sanificação no sucesso do tratamento da periodontite apical. **Revista Odontológica Brasileira Central**, Goiania, v. 21, n. 56, p. 367–375, 2012.

EVANS, M.; DAVIES, J. K.; SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 35, p. 221-228, 2002.

FOSCHI, F. *et al.* Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals in vitro. **Lasers in Surgery and Medicine**, Nova Iorque, v. 39, n. 10, p. 782–787, 2007.

FREITAS, L. S. F. **Efeito Antimicrobiano de Múltiplas Sessões de Terapia Fotodinâmica Sobre Biofilmes de *Candida* spp. Formados *In Vitro***. 2015. Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) – Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2015.

HSIEH, Y. *et al.* An in vitro study on the effect of combined treatment with photodynamic and chemical therapies on *Candida albicans*. **International Journal of Molecular Sciences**, Basileia, v. 19, n. 2, 2018.

KERMEOGLU, F. *et al.* Determination of the Minimum Inhibitory Concentrations of Alexidine and Chlorhexidine Against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*: An In Vitro Study. **Cureus**, São Francisco, v. 10, n. 2, p. 1–8, 2018.

LACERDA, M. F. L. S. *et al.* Infecção secundária e persistente e sua relação com o fracasso do tratamento endodôntico. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v. 73, n. 3, p. 212–7, 2016.

LARSON R, FARBER B. **Estatística Aplicada**. 6. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2016.

LOUWAKUL, P.; SAELO, A.; KHEMALEELAKUL, S. Efficacy of calcium oxide and calcium hydroxide nanoparticles on the elimination of *Enterococcus faecalis* in human root dentin. **Clinical Oral Investigations**, Berlim, v. 21, n. 3, p. 865–871, 2017.

MIRANDA, R. G. *et al.* Ex vivo antimicrobial efficacy of the EndoVac® system plus photodynamic therapy associated with calcium hydroxide against intracanal *Enterococcus faecalis*. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 46, n. 6, p. 499–505, 2013.

MISBA, L.; ABDULRAHMAN, H.; KHAN, A. U. Photodynamic efficacy of toluidine blue O against mono species and dual species bacterial biofilm. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Amsterdã, v. 26, p. 383–388, 2019.

NAGATA, J. *et al.* Antibacterial photodynamic therapy for dental caries: Evaluation of the photosensitizers used and light source properties. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Amsterdã, v. 9, n. 2, p. 122–131, 2012.

PEREIRA, R. S. *et al.* Microbial analysis of root canal and periradicular lesion associated to teeth with endodontic failure. **Anaerobe**, Londres, v. 48, p. 12–18, 2017.

PRADA, I. *et al.* Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. **Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal**, Valencia, v. 24, n. 3, p. e364–e372, 2019.

PRAŽMO, E. J.; GODLEWSKA, R. A.; MIELCZAREK, A. B. Effectiveness of repeated photodynamic therapy in the elimination of intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm: an in vitro study. **Lasers in Medical Science**, Teerã, v. 32, n. 3, p. 655–661, 2017.

RABELLO, D. G. D. *et al.* Does supplemental photodynamic therapy optimize the disinfection of bacteria and endotoxins in one-visit and two-visit root canal therapy? A randomized clinical trial. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Amsterdã, v. 19, p. 205–211, 2017.

SAKKO, M.; TJADERHANE, L.; RAUTEMAA-RICHARDSON, R. Microbiology of Root Canal Infections. **Primary Dental Journal**, Londres, v. 5, n. 2, p. 84–89, 2016.

SILVA, H. T. *et al.* Lasers como Coadjuvantes ao Tratamento Periodontal Não-Cirúrgico e Aspectos Clínicos: Existem Evidências Suficientes para Indicar sua Aplicação?. **Brazilian Journal of Periodontology**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p. 45-54, 2016.

SIQUEIRA JR, J. F.; LOPES, H. P. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 361–369, 1999.

TOKUC, M.; OZALP, S.; TOPCUOGLU, N.; KULEKCI, G. The Bactericidal Effect of 2780 nm Er,Cr:YSGG Laser Combined with 940 nm Diode Laser in *Enterococcus faecalis* Elimination: A Comparative Study. **Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery**, New Rochelle, v. 0, n. 0, p. 1–6, 2019.

WANG, Y.; HUANG, X. Comparative Antibacterial Efficiency of Photodynamic Therapy and Ultrasonic Irrigation Against *Enterococcus faecalis* In Vitro. **Photochemistry and Photobiology**, Oxford, v. 90, n. 8, p. 1084–1088, 2014.

XU, J. *et al.* Influence of Endodontic Procedure on the Adherence of *Enterococcus faecalis*. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 0, n. 0, p. 1–7, 2019.

ZANCAN, R. F. *et al.* Antimicrobial Activity and Physicochemical Properties of Calcium Hydroxide Pastes Used as Intracanal Medication. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 42, n. 12, p. 1822–1828, 2016.

ANEXO

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA PHARMACEUTICAL BIOLOGY

Preparing Your Paper

All authors submitting to medicine, biomedicine, health sciences, allied and public health journals should conform to the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, prepared by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE).

Structure

Your paper should be compiled in the following order: title page; abstract; keywords; main text introduction, materials and methods, results, discussion; acknowledgments; declaration of interest statement; references; appendices (as appropriate); table(s) with caption(s) (on individual pages); figures; figure captions (as a list).

Word Limits

Please include a word count for your paper. There are no word limits for papers in this journal.

Style Guidelines

Please refer to these quick style guidelines when preparing your paper, rather than any published articles or a sample copy.

Please use American spelling style consistently throughout your manuscript.

Please use single quotation marks, except where ‘a quotation is “within” a quotation’. Please note that long quotations should be indented without quotation marks.

Pharmaceutical Biology requires that studies involving humans, both volunteers and patients, or animals be approved by an institutional review board, in accordance with approved published guidelines, prior to actually performing the research and publishing the data. Details including clinical trial registration number must be provided in the methods section if research includes studies conducted on human volunteers. In all studies of plants or animals, specific identification should be made as to the materials used, such as by citation of voucher specimen in herbarium or other collections, quoting name of collector, collection number (or date), place of collection, etc. Botanical nomenclature should be consistent with Index Kewensis, and include Latin binomial, authority, and family at first mention in the abstract and in the text. Authors are advised to consult the International Plant Name Index (IPNI) and W3Tropicos web-based databases to determine the correct botanical name.

Formatting and Templates

Papers may be submitted in Word format. Figures should be saved separately from the text. To assist you in preparing your paper, we provide formatting template(s).

Word templates are available for this journal. Please save the template to your hard drive, ready for use.

If you are not able to use the template via the links (or if you have any other template queries) please contact us here.

Taylor & Francis Editing Services

To help you improve your manuscript and prepare it for submission, Taylor & Francis provides a range of editing services. Choose from options such as English Language Editing, which will ensure that your article is free of spelling and grammar errors, Translation, and Artwork Preparation. For more information, including pricing.

Checklist: What to Include

1. **Author details.** Please ensure everyone meeting the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) requirements for authorship is included as an author of your paper. All authors of a manuscript should include their full name and affiliation on the cover page of the manuscript. Where available, please also include ORCiDs and social media handles (Facebook, Twitter or LinkedIn). One author will need to be identified as the corresponding author, with their email address normally displayed in the article PDF (depending on the journal) and the online article. Authors' affiliations are the affiliations where the research was conducted. If any of the named co-authors moves affiliation during the peer-review process, the new affiliation can be given as a footnote. Please note that no changes to affiliation can be made after your paper is accepted.
2. Should contain a structured abstract of 250 words. A structured abstract should cover (in the following order): for an original article: context, objective, materials and methods, results, discussion and conclusion; for a review article: context, objective, methods (including data sources, study selection and data extraction), results and conclusion.
3. You can opt to include a **video abstract** with your article.
4. Between 3 and 10 **keywords**.
5. **Funding details.** Please supply all details required by your funding and grant-awarding bodies as follows:
For single agency grants
 This work was supported by the [Funding Agency] under Grant [number xxxx].
For multiple agency grants
 This work was supported by the [Funding Agency #1] under Grant [number xxxx]; [Funding Agency #2] under Grant [number xxxx]; and [Funding Agency #3] under Grant [number xxxx].
6. **Disclosure statement.** This is to acknowledge any financial interest or benefit that has arisen from the direct applications of your research. Further guidance on what is a conflict of interest and how to disclose it.

7. **Biographical note.** Please supply a short biographical note for each author. This could be adapted from your departmental website or academic networking profile and should be relatively brief (e.g. no more than 200 words).
8. **Data availability statement.** If there is a data set associated with the paper, please provide information about where the data supporting the results or analyses presented in the paper can be found. Where applicable, this should include the hyperlink, DOI or other persistent identifier associated with the data set(s). Templates are also available to support authors.
9. **Data deposition.** If you choose to share or make the data underlying the study open, please deposit your data in a recognized data repository prior to or at the time of submission. You will be asked to provide the DOI, pre-reserved DOI, or other persistent identifier for the data set.
10. **Geolocation information.** Submitting a geolocation information section, as a separate paragraph before your acknowledgements, means we can index your paper's study area accurately in JournalMap's geographic literature database and make your article more discoverable to others.
11. **Supplemental online material.** Supplemental material can be a video, dataset, fileset, sound file or anything which supports (and is pertinent to) your paper. We publish supplemental material online via Figshare.
12. **Figures.** Figures should be high quality (1200 dpi for line art, 600 dpi for grayscale and 300 dpi for colour, at the correct size). Figures should be supplied in one of our preferred file formats: EPS, PS, JPEG, GIF, or Microsoft Word (DOC or DOCX). For information relating to other file types, please consult our Submission of electronic artwork document.
13. **Tables.** Tables should present new information rather than duplicating what is in the text. Readers should be able to interpret the table without reference to the text. Please supply editable files.
14. **Equations.** If you are submitting your manuscript as a Word document, please ensure that equations are editable. More information about mathematical symbols and equations.
15. **Units.** Please use SI units (non-italicized).

Using Third-Party Material in your Paper

You must obtain the necessary permission to reuse third-party material in your article. The use of short extracts of text and some other types of material is usually permitted, on a limited basis, for the purposes of criticism and review without securing formal permission. If you wish to include any material in your paper for which you do not hold copyright, and which is not covered by this informal agreement, you will need to obtain written permission from the copyright owner prior to submission.

Disclosure Statement

Please include a disclosure statement, using the subheading "Disclosure of interest." If you have no interests to declare, please state this (suggested wording: *The authors report no conflict of interest*). For all NIH/Wellcome-funded papers, the grant number(s) must be included in the declaration of interest statement.

Clinical Trials Registry

In order to be published in a Taylor & Francis journal, all clinical trials must have been registered in a public repository at the beginning of the research process (prior to patient enrolment). Trial registration numbers should be included in the abstract, with full details in the methods section. The registry should be publicly accessible (at no charge), open to all prospective registrants, and managed by a not-for-profit organization. For a list of registries that meet these requirements, please visit the WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP). The registration of all clinical trials facilitates the sharing of information among clinicians, researchers, and patients, enhances public confidence in research, and is in accordance with the ICMJE guidelines.

Complying With Ethics of Experimentation

Please ensure that all research reported in submitted papers has been conducted in an ethical and responsible manner, and is in full compliance with all relevant codes of experimentation and legislation. All papers which report in vivo experiments or clinical trials on humans or animals must include a written statement in the Methods section. This should explain that all work was conducted with the formal approval of the local human subject or animal care committees (institutional and national), and that clinical trials have been registered as legislation requires. Authors who do not have formal ethics review committees should include a statement that their study follows the principles of the Declaration of Helsinki.

Consent

All authors are required to follow the ICMJE requirements on privacy and informed consent from patients and study participants. Please confirm that any patient, service user, or participant (or that person's parent or legal guardian) in any research, experiment, or clinical trial described in your paper has given written consent to the inclusion of material pertaining to themselves, that they acknowledge that they cannot be identified via the paper; and that you have fully anonymized them. Where someone is deceased, please ensure you have written consent from the family or estate. Authors may use this Patient Consent Form, which should be completed, saved, and sent to the journal if requested.

Health and Safety

Please confirm that all mandatory laboratory health and safety procedures have been complied with in the course of conducting any experimental work reported in your paper. Please ensure your paper contains all appropriate warnings on any hazards that may be involved in carrying out the experiments or procedures you have described, or that may be involved in instructions, materials, or formulae.

Please include all relevant safety precautions; and cite any accepted standard or code of practice. Authors working in animal science may find it useful to consult the International Association of Veterinary Editors' Consensus Author Guidelines on Animal Ethics and Welfare and Guidelines for the Treatment of Animals in

Behavioural Research and Teaching. When a product has not yet been approved by an appropriate regulatory body for the use described in your paper, please specify this, or that the product is still investigational.

Submitting Your Paper

This journal uses ScholarOne Manuscripts to manage the peer-review process. If you haven't submitted a paper to this journal before, you will need to create an account in ScholarOne. Please read the guidelines above and then submit your paper in the relevant Author Centre, where you will find user guides and a helpdesk.

Please note that *Pharmaceutical Biology* uses Crossref™ to screen papers for unoriginal material. By submitting your paper to *Pharmaceutical Biology* you are agreeing to originality checks during the peer-review and production processes.

On acceptance, we recommend that you keep a copy of your Accepted Manuscript.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, fonte de infinita misericórdia e compaixão, que me amou primeiro e me concedeu as mais lindas coisas; que me livrou de tantos males, me ajudou a superar tantos momentos difíceis, me concedeu a vocação de exercer essa profissão tão linda e que, a cada dia, me dá a graça de ser vitorioso pelo seu Santíssimo Sangue. À **Nossa Senhora**, minha mediadora em todas as minhas dificuldades, minha intercessora e minha porta ao céu. Gratidão pelas graças alcançadas e por sempre rogar a Deus por mim.

Ao meu pai, **Orisvaldo Moura**, homem tão batalhador e humilde que nunca me negou condições para que eu realizasse minhas vontades e sempre tivesse a melhor educação. Pelo teu amor de pai e por sempre se preocupar no meu bem-estar: eu te amo, paiinho!

À minha mãe, **Maria Aparecida**, meu exemplo de coragem, determinação, amor, fé e esperança. Tão guerreira, destemida e dedicada aos filhos; Maria que me dá amor todos os dias e que não se cansa de orar por mim. Minha amiga fiel, advogada e que nunca desistiu de mim. Sou grato pela sua luta incansável por mim durante dois longos anos morando longe de sua casa para que eu pudesse ser o que sou hoje. Maria, dona do meu mais sincero amor: muito obrigado.

À minha irmã, **Jocilda Queiroga**, que sempre me ajudou a nunca desistir e me deu apoio para que a caminhada não fosse tão difícil. Grato por todo o esforço e dedicação para que eu atingisse as minhas metas. Meu amor por você é maior que eu mesmo.

Aos meus familiares que sempre me encorajaram e me deram suporte para o meu futuro profissional. À **Claydiane, Claysson, Pedro Henrique e Graciete** por serem minha segunda família e me acolherem em Campina Grande, por todo o amor dado a mim, proporcionando momentos muito especiais, amo vocês!

À vovó **Francisca**, tão conhecida por *Chica de Otávio*, que me ama de uma forma singular e que tem o meu amor tão recíproco, pela confiança, por sempre estar em minha defesa, me incentivar e me ensinar a lutar pelos meus sonhos. Aos meus avós maternos, **Rita e Valdeci**, por todo o amor e por todo apoio prestado durante toda a minha vida. Que Deus abençoe vocês infinitamente.

À **Sâmia Machado**, minha dupla de clínica e de vida, que torce pela minha felicidade e que me deu um dos significados de verdadeira amizade. Sâmia é sinônimo de confiança, parceria, amor, fidelidade e paz. Me ajudou a tornar meus dias mais felizes, me encorajou e me apoiou em todas as minhas decisões. Meu coração é inteiramente grato a esse ser de luz que Deus me proporcionou.

À **Kelly Barbosa, Carolina de Lourdes e Raíssa Toscano** por toda a amizade, confiança e todas as saídas que me trouxeram momentos felizes. Pelo amparo, pelo amor de irmão, pelo carinho... amo vocês demais!

Às minhas amigas do coração **Larissa Fernandes, Flávia Almeida, Fernanda Dantas, Larissa Costa, Karla Menezes, Diana Gabrielle, Karla Monteiro, Márcia Lacerda, Thamyres Lima, Dauany Sousa, Tayane Ismael, Gabriella Vasconcelos, Isabella Jardelino**, entre tantas outras, pelo apoio e por nossa linda amizade.

Aos meus amigos **Tiago José, Diogo Policarpo, Isaías Mota, Lucas Rosa, Adalberto, Kevison, João Gabriel, Geanderson**, entre outros, grato pela parceria e irmandade. A **Arthur Oliveira** que sempre me apoiou e acreditou em mim, me deu amparo e foi como um anjo enviado por Deus para me dar paz em tantas ocasiões perturbadoras de minha vida. Vocês são especiais em minha vida e amo cada um.

À **Thayse Almeida** e **Islane** por me acolher e me ajudar no desenvolvimento profissional dentro dessa carreira tão apaixonante que é a Odontologia.

À **Eveline Angélica**, mentora dessa pesquisa, por ser uma benção de Deus para os que tanto necessitam. Grato a você pelo auxílio neste trabalho, pela coragem, paciência e disponibilidade. Você tem papel significativo na concretização desse sonho.

À **Daliana Queiroga**, minha orientadora, mulher guerreira, exemplo de humanização, dedicação e persistência, agradeço pela paciência, por todos os ensinamentos repassados, por toda as vezes que precisou “puxar minha orelha” para que eu evoluísse, por sempre querer o meu desenvolvimento e que a minha carreira profissional fosse bem-sucedida. Obrigado por ser mais que uma orientadora, perpassando a amizade, chegando a ser quase um laço familiar.

À **Kátia Santos**, **Lorena Brandt**, **Fernanda Mariz** e **Robeci Macêdo**, meus maiores exemplos da Endodontia, por instigarem em mim o amor por essa área tão necessária diante do cenário odontológico. Grato por sempre acreditarem em mim, me estimularem a buscar sempre o meu melhor e nunca se cansar de me ajudar a crescer.

Aos meus professores da graduação **Jacinta Arruda**, **Edja Maria**, **Ana Flávia**, **Alexandre Durval**, **Karla Rovaris**, **Jozinete Pereira**, **Francineide Guimarães**, **Darlene Ramos**, **Waldênia Freire**, **Pollianna Muniz**, **Igor Figueiredo**, **Amaro Lafayette**, **Dani Pita**, **Criseuda**, **Bruna Santos**, **Renata Cardoso** e **João Paulo** por todo o ensinamento doado durante a graduação. E a todos os professores das séries iniciais até o ensino médio, grato por ter sido moldado por vocês e terem me ajudado até aqui.