



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

DANYLLO GUIMARÃES MORAIS BARROS

**COMPARAÇÃO DA EFICÁCIA ANTIBACTERIANA DA TERAPIA
FOTODINÂMICA E IRRIGAÇÃO ULTRASSÔNICA PASSIVA NA DESINFECÇÃO
DE CANAIS RADICULARES: ESTUDO *IN VITRO***

**CAMPINA GRANDE – PB
2020**

DANYLLO GUIMARÃES MORAIS BARROS

**COMPARAÇÃO DA EFICÁCIA ANTIBACTERIANA DA TERAPIA
FOTODINÂMICA E IRRIGAÇÃO ULTRASSÔNICA PASSIVA NA DESINFECÇÃO
DE CANAIS RADICULARES: ESTUDO *IN VITRO***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Odontologia pelo Curso de Odontologia
da Universidade Estadual da Paraíba –
Campus I.

Orientadora: Profa. Dra. Daliana
Queiroga de Castro Gomes

**CAMPINA GRANDE – PB
2020**

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.

B277c Barros, Danyllo Guimaraes Morais.

Comparação da eficácia antibacteriana da terapia fotodinâmica e irrigação ultrassônica passiva na desinfecção de canais radiculares [manuscrito] : estudo *in vitro* / Danyllo Guimaraes Morais Barros. - 2019.

31 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2020.

"Orientação : Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro Gomes, Coordenação do Curso de Odontologia - CCBS."

1. Endodontia. 2. Terapia fotodinâmica. 3. Ultrassom. 4. Enterococcus faecalis. I. Título

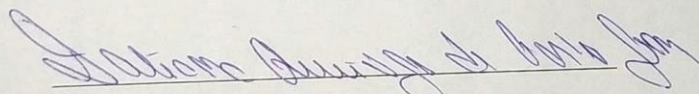
21. ed. CDD 617.634 2

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA ANTIBACTERIANA DA TERAPIA FOTODINÂMICA
E IRRIGAÇÃO ULTRASSÔNICA PASSIVA NA DESINFECÇÃO DE CANAIS
RADICULARES: ESTUDO COMPARATIVO IN VITRO**

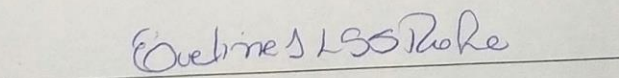
DANYLLO GUIMARÃES MORAIS BARROS

Aprovado em: 25 / 11 / 2019

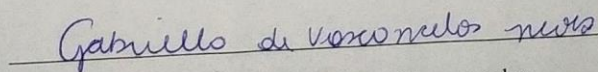
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro Moura



Profa. Dra. Eveline Angélica Lira de Sousa Sales Rocha



Profa. Msc. Gabriella Neves Vasconcelos

“Tudo o que fizerem, seja em palavra seja em ação, façam-no em nome do Senhor Jesus,
dando por meio dele graças a Deus Pai”.

Colossenses 3:17

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Secção transversal dos espécimes na junção cimento-esmalte.....	14
Figura 2 - Câmara de fluxo laminar vertical.....	15
Figura 3 - Agitação ultrassônica do NaCl a 2,5%.....	17
Figura 4 - A: Fotossensibilizador azul de metileno; B: Inserção do fotossensibilizador no interior do canal radicular.....	17
Figura 5 - Inserção da fibra óptica e ativação do fotossensibilizador pelo laser Diodo.....	18
Figura 6 - A: Coleta microbiológica com cone de papel absorvente; B: Cones de para transferidos para tubos de ensaio.....	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise comparativa da quantidade de bactérias (UFC/mL) observadas nos diferentes tempos de avaliação de acordo com cada grupo experimental.....	19
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

CR - Canais Radiculares

TFD - Terapia Fotodinâmica

IUP - Irrigação Ultrassônica Passiva

UFC - Unidades Formadoras de Colônia

CEP-UEPB - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual da Paraíba

UEPB - Universidade Estadual da Paraíba

LABDEM - Laboratório de Desenvolvimento de Medicamentos

CCBS - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 MÉTODOS	11
2.1 Considerações Éticas	11
2.2 Caracterização do Estudo	12
2.3 Local do Estudo	12
2.4 População e Amostra	12
2.4.1 Critérios de Inclusão.....	12
2.4.2 Critérios de Exclusão.....	12
2.5 Instrumentos	12
2.5.1 Padronização dos Espécimes Utilizados.....	12
2.5.2 Micro-organismos e Meio de Cultura.....	13
2.5.3 Contaminação dos Espécimes com <i>Enterococcus faecalis</i>	14
2.5.4 Prova da Bile-esculina.....	15
2.5.5 Prova de tolerância ao NaCl a 6,5%.....	15
2.6 Distribuição dos grupos	15
2.7 Coletas e Análises Microbiológicas	17
2.8 Análise Estatística	18
3 RESULTADOS	18
4 DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS	
ANEXO 1 - Parecer consubstanciado do CEP	
ANEXO 2: - Normas da <i>Indian Journal of Dental Research</i>	

COMPARAÇÃO DA EFICÁCIA ANTIBACTERIANA DA TERAPIA FOTODINÂMICA E IRRIGAÇÃO ULTRASSÔNICA PASSIVA NA DESINFECÇÃO DE CANAIS RADICULARES: ESTUDO *IN VITRO*

Danyllo Guimarães Morais Barros¹

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar comparativamente a eficácia antibacteriana entre a Terapia Fotodinâmica (TFD) e a Irrigação Ultrassônica Passiva (IUP) na desinfecção de canais radiculares. Tratou-se de um estudo experimental laboratorial *in vitro*. Cinquenta pré-molares humanos unirradiculares com canais retos, ápices completamente formados e sem tratamento endodôntico prévio foram seccionados, padronizados e divididos de forma randomizada em quatro grupos. Todas as amostras foram contaminadas com *Enterococcus faecalis* (3×10^8 UFC/mL). Para o primeiro grupo (controle negativo, n=5), não houve aplicação de nenhum protocolo de tratamento. O segundo grupo (controle positivo, n=15) foi irrigado com 1,0 mL de NaClO a 2,5%, durante 30 segundos utilizando uma agulha de irrigação em movimentos verticais. O terceiro grupo (IUP, n=15) foi inundado com 1,0 mL de NaClO a 2,5% seguido de agitação ultrassônica com inserto acoplado em ultrassom em três ciclos de 30 segundos. O último grupo (TFD, n=15) foi preenchido com 0,5 mL de azul de metileno a 0,005% com pré-irradiação de três minutos. A fonte de luz utilizada foi o laser diodo, 660nm, 100mW, 9J, durante 90s. As coletas foram realizadas antes e imediatamente após a aplicação das terapias. Os resultados foram obtidos por meio de análise de grau de turvação em espectrofotômetro e expressos em unidades formadoras de colônia por mL (UFC mL⁻¹). Os testes ANOVA e TUKEY foram utilizados, e o nível de significância foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$). A porcentagem de inibição variou de 10,72 (Controle negativo) a 39,02% (IUP), e os diferentes protocolos testados influenciaram de modo significativo a inibição bacteriana ($p < 0,05$). Os tratamentos que proporcionaram maior percentual de inibição bacteriana foram: IUP (39,02%) e Controle positivo (38,0%). Após a realização do estudo, pode-se concluir que, dentre as terapias aplicadas, a IUP foi a mais eficaz na redução da população bacteriana de *E. faecalis*.

Palavras-Chave: Endodontia, Terapia Fotodinâmica, Ultrassom, *Enterococcus faecalis*.

¹ Graduando em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba - Campus I
Email: danyllogmb@gmail.com

COMPARATION OF ANTIBACTERIAL EFFICACY OF PHOTODYNAMIC THERAPY AND PASSIVE ULTRASONIC IRRIGATION IN RADICLE CHANNEL DISINFECTION: STUDY *IN VITRO*

Danyllo Guimarães Morais Barros²

ABSTRACT

The aim of this study was to comparatively evaluate the antibacterial efficacy between Photodynamic Therapy (PDT) and Passive Ultrasonic Irrigation (PUI) in root canal disinfection. It was an *in vitro* experimental laboratory study. Fifty uniradicular human premolars with straight canals, fully formed apices and no previous endodontic treatment were sectioned, standardized and randomized into four groups. All samples were contaminated with *Enterococcus faecalis* (3×10^8 CFU/ mL). For the first group (negative control, n = 5), no treatment protocol was applied. The second group (positive control, n = 15) was irrigated with 1.0 mL 2.5% NaClO for 30 seconds using a vertically moving irrigation needle. The third group (IUP, n = 15) was flooded with 1.0 mL of 2.5% NaClO followed by ultrasonic agitation with ultrasound-coupled insert in three 30-second cycles. The last group (PDT, n = 15) was filled with 0.5 mL of 0.005% methylene blue with three minutes pre-irradiation. The light source used was the laser diode, 660nm, 100mW, 9J, for 90s. The collections were performed before and immediately after the application of the therapies. The results were obtained by turbidity degree analysis in spectrophotometer and expressed in colony forming units per mL (CFU mL⁻¹). The ANOVA and TUKEY tests were used, and the significance level was set at 5% (p <0.05). The inhibition percentage ranged from 10.72 (Negative Control) to 39.02% (IUP), and the different protocols tested significantly influenced the bacterial inhibition (p <0.05). The treatments that provided the highest percentage of bacterial inhibition were: IUP (39.02%) and Positive Control (38.0%). After the study, it can be concluded that, among the applied therapies, UTI was the most effective in reducing the bacterial population of *E. faecalis*.

Keywords: Endodontics, Photodynamic therapy, Ultrasonics, *Enterococcus faecalis*.

² Graduating in Dentistry, State University of Paraíba - Campus I
Email: danyllogmb@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

O principal objetivo do tratamento endodôntico é realizar a modelagem dos canais radiculares (CR) e eliminar os micro-organismos neles presentes com conseqüente reparo da região periapical (ALBINO SOUZA *et al.*, 2017). Devido à heterogeneidade do sistema de CR, a completa limpeza continua sendo um grande desafio na Endodontia, pois o tratamento convencional pode manter bactérias persistentes, como *Enterococcus faecalis*, dentro dos canais acessórios e túbulos dentinários, causando insucesso (PRAŽMO; GODLEWSKA; MIELCZAREK, 2017; XU *et al.*, 2019).

Algumas terapias auxiliares têm sido utilizadas neste contexto, como a terapia fotodinâmica (TFD), que consiste numa técnica não invasiva, com baixa citotoxicidade e sem efeitos adversos nos tecidos adjacentes (ALBINO SOUZA *et al.*, 2017). Tem como mecanismo de ação a interação entre três fatores - luz em comprimento de onda específico, fotossensibilizador e oxigênio molecular - para produzir oxigênio singlete que destrói as células bacterianas (PRAŽMO; GODLEWSKA; MIELCZAREK, 2017, PLOTINO; GRANDE; MERCADE, 2019).

Outro método em evidência, para minimizar as falhas do tratamento endodôntico, é a Irrigação Ultrassônica Passiva (IUP), que busca a potencialização do efeito de agentes químicos irrigantes pela produção de um fluxo acústico por ultrassom (ESTEVEZ *et al.*, 2017). Atualmente, é considerada padrão ouro para a ativação de irrigantes na literatura (DONNERMEYER *et al.*, 2019). Assim, o presente estudo propôs-se a avaliar comparativamente, *in vitro*, a eficácia antibacteriana entre a TFD e a IUP na desinfecção de CR.

2 MÉTODOS

2.1 Considerações Éticas

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual da Paraíba (CEP-UEPB), apresentando o número do parecer: 79027617.8.000.5187 (Anexo 1).

2.2 Caracterização do Estudo

Tratou-se de um estudo experimental laboratorial *in vitro*.

2.3 Local do Estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) pertencente ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

2.4 População e Amostra

A amostra constitui-se por 50 dentes extraídos e doados do banco de dentes humanos da Universidade Estadual da Paraíba - Campus VIII, em Araruna-PB.

2.4.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos pré-molares unirradiculares com canais retos, ápices completamente formados e nunca tratados endodonticamente.

2.4.2 Critérios de Exclusão

Dentes com rizogênese incompleta, reabsorção interna ou externa, fraturas ou trincas, anomalias e cáries que envolvessem o sistema de CR, foram excluídos do estudo.

2.5 Instrumentos

2.5.1 Padronização dos Espécimes

Os dentes selecionados foram submetidos a exame radiográfico, sendo visualizados criteriosamente com auxílio lupa e negatoscópio. Suas coroas foram seccionadas horizontalmente ao nível da junção amelo-cementária, tendo seus comprimentos padronizados em 15 mm (Figura 1).



Figura 1. Secção transversal dos espécimes na junção cimento-esmalte.

O canal radicular foi previamente irrigado com 5,0 mL de soro fisiológico e explorado com uma lima K #20 (Dentsply-Maillefer[®], Ballaigues, Suíça). Após isso, o mesmo foi instrumentado com o sistema rotatório Reciproc[®] (VDW, Munique, Alemanha) R40, cujo diâmetro da ponta corresponde a 0,40 mm. A cada troca de instrumento, foi realizada irrigação, aspiração e inundação com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2,5% (Asfer[®], Santa Maria, SP). Finalizada a instrumentação, a *smear layer* foi removida com 5 ml de ácido etilenodiamino tetracético dissódico (EDTA) (Biodinâmica, Paraná, Brasil) a 17% durante três minutos, sendo, em seguida, realizada a irrigação final com 5 mL de NaOCl a 2,5% e 1 mL de solução salina estéril.

Os espécimes tiveram seus ápices selados com Ionômero de Vidro Restaurador Riva Light Cure[®] (SDI, Victoria, Austrália) e receberam dupla camada de esmalte transparente (Colorama, SP, Brasil) para impermeabilizar a superfície externa. Por fim, foram colocados em microtubos individuais (Eppendorf, NY, USA) e autoclavados a 120°C, 1 atm, por 20 min.

2.5.2 Micro-organismos e Meio de Cultura

Em caldo de *Brain Heart Infusion* (BHI, Oxoid; Basinkstoke, UK), culturas puras de *E. faecalis* (ATCC 29212) foram reativadas e utilizadas como contaminantes para os espécimes. As colônias isoladas foram suspensas em béqueres contendo 500 mL de BHI, agitadas mecanicamente e ajustadas em espectrofotômetro com absorvância de 625 nm, até obter-se a concentração equivalente a 1,0 da escala *McFarland* ($3,0 \times 10^8$ UFC/mL) ficando durante sete horas em estufa a 37°C (ANDRADE *et al.*, 2015).

2.5.3 Contaminação dos Espécimes com *Enterococcus faecalis*

Baseado no protocolo descrito por Andrade *et al.* (2015), inicialmente, 1,0 mL de BHI estéril foi inserido nos microtubos contendo os espécimes. Em seguida, foi realizado um banho de ultrassom durante 15 min, para permitir a penetração máxima do meio de cultura nos túbulos dentinários antes do passo de contaminação bacteriana.

O inóculo bacteriano, foi inserido nos microtubos (1,0 mL) e centrifugado em sequência a 1.400, 1.400, 2.000, 2.000 e 3.600 RPM em ciclos de cinco minutos para cada velocidade. Por último, um ciclo de 3.600 RPM foi realizado em dez minutos. Uma solução fresca de bactérias foi adicionada entre cada centrifugação e a solução anterior foi descartada. Por fim, foi agitado em um vortex (Ika[®] Vortex 3 Genius, Wilmington, EUA) e incubado a 37° C por 24 h.

Após o período estabelecido, as amostras foram agitadas em vortex por dez segundos, e os inóculos dos microtubos foram descartados. 1,0 mL de caldo BHI estéril foi inserido, seguido de um ciclo de centrifugação de 3.600 RPM durante cinco minutos, e os microtubos foram novamente incubados a 37°C durante 24 h.

Após a conclusão dessa etapa, os protocolos realizados dentro das 48 h foram repetidos. Os procedimentos foram feitos em câmara de fluxo laminar vertical previamente higienizada e desinfetada com luz ultravioleta (Figura 2).



Figura 2 - Câmara de fluxo laminar vertical.

2.5.4 Prova da Bile-esculina

Amostras do crescimento colonial das placas de ágar foram coletadas, semeadas no meio de Bile-Esculina (Merck, Darmsradt, Alemanha) e armazenadas a 37°C por 24 horas para verificação da presença do *Streptococcus sp.* O teste da Bile-Esculina é baseado na capacidade

de algumas bactérias hidrolisarem esculina em presença de bílis. As bactérias que, nela conseguem crescer, formam um complexo negro, pois a esculetina reage com os íons férricos (Figura 7). O teste positivo indica a presença do *Streptococcus sp*, entre os quais pode haver amostras do *E. faecalis*.

2.5.5 Prova de tolerância ao NaCl a 6,5%

Esse teste é utilizado para a verificação da capacidade de micro-organismos crescerem na presença de NaCl a 6,5%, diferenciando o *Enterococcus spp* (que cresce na presença de NaCl) dos demais *Streptococcus spp* (que não crescem na presença de NaCl). Amostras do crescimento colonial das placas de ágar foram coletadas, inoculadas no meio líquido de NaCl a 6,5% e armazenadas a 37°C por 24 horas. A confirmação da presença do *E. faecalis* se dá após 24 horas, se ocorrer à turvação do BHI.

2.6 Distribuição dos Grupos

Os espécimes foram divididos aleatoriamente conforme o protocolo de irrigação final: Grupo I (controle negativo): cinco dentes. Foi realizada a contaminação com *E. faecalis* não havendo aplicação de nenhum protocolo de irrigação pós-preparo.

Grupo II (controle positivo): 15 dentes. Após o término da instrumentação, o canal radicular foi irrigado com 1,0 mL de NaClO a 2,5%, durante 30 segundos utilizando agulha posicionada a 2,0 mm do comprimento de trabalho e movida com movimentos verticais.

Grupo III (IUP): 15 dentes. O canal radicular foi inundado com 1,0 mL de NaClO a 2,5% e recebeu agitação ultrassônica com uso do inserto Irrisonic E1 (0,20 mm de diâmetro Helse Dental Technology, São Paulo, Brasil) acoplado em ultrassom (JetSonic BP, Gnatus®) com e posicionado a 1,0 mm aquém do comprimento real de trabalho em três ciclos de 30 segundos cada (Figura 3), evitando contato com as paredes do canal radicular.



Figura 3 - Agitação ultrassônica do NaCl a 2,5%.

Grupo IV (TFD): 15 dentes. O canal foi preenchido com 0,5 mL do fotossensibilizador azul de metileno a 0,005% (Chimiolux – Aptivalux, MG, Brasil) com cinco minutos em pré-irradiação (Figura 4 A/B). A fibra ótica foi, então, inserida dentro do canal radicular em movimentos helicoidais apicocervicais (Figura 5). A fonte de luz utilizada foi o aparelho de laser Diodo Laser (Therapy XT – DMC Equipamentos Ltda, São Carlos, SP, Brasil), comprimento de onda de 660 nm, potência de 100mW, energia de 9J, 90 segundos de irradiação, modo contínuo (CW), com spot de 0,028 cm². Posteriormente, o fotossensibilizador foi removido com 5 mL de solução salina estéril.



Figura 4 - A: Fotossensibilizador azul de metileno; B: Inserção do fotossensibilizador no interior do canal radicular.



Figura 5 - Inserção da fibra óptica e ativação do fotossensibilizador pelo laser Diodo.

2.7 Coleta e Análise Microbiológica

Para todos os grupos, foram realizadas duas coletas. A primeira foi feita previamente a realização dos protocolos e a segunda imediatamente após os protocolos, sendo a análise feita após 24 horas, para verificar a redução microbiana. Para isso, três pontas de papel absorvente estéreis (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) foram inseridos nos canais radiculares após a irrigação com 5,0 mL de solução salina estéril. Os cones utilizados foram transferidos para tubos com 10,0 mL de BHI (Figura 6 A/B) e incubados em estufa a 37°C por 24 h.

Os resultados foram obtidos por meio de análise de grau de turvação em espectrofotômetro (Shimadzu® UV mini-1240, Quioto, Japão) no comprimento de onda de luz visível de 645 nm e expressos em unidades formadoras de colônia por mL (UFC mL⁻¹).

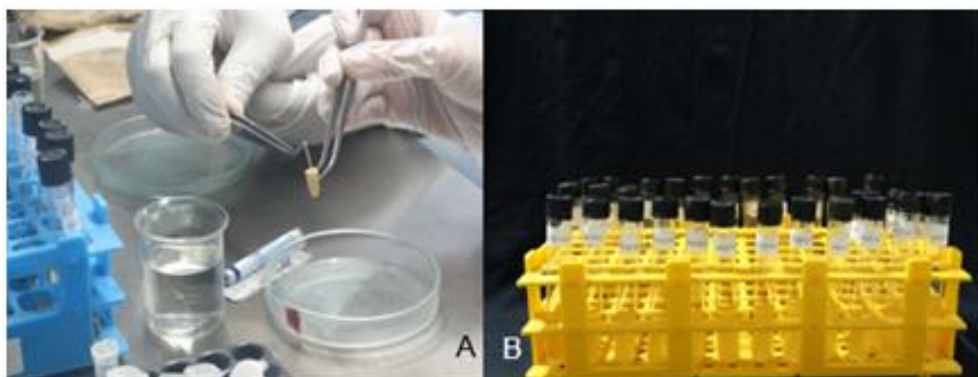


Figura 6 - A: Coleta microbiológica com cone de papel absorvente; B: Cones de papel transferidos para tubos de ensaio.

2.8 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de Variância (ANOVA) mista seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey HSD ($p < 0,05$) usando o software IBM SPSS *Statistic* versão 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EUA).

3 RESULTADOS

A análise comparativa da quantidade de bactérias, expressas em UFC/mL é descrita na Tabela 1. A porcentagem de inibição variou de 10,72 a 39,02%, e os diferentes protocolos testados influenciaram de modo significativo a inibição bacteriana ($p < 0,05$). Os tratamentos que proporcionaram maior percentual de inibição bacteriana foram a IUP e o Controle positivo (Irrigação convencional com agulha).

Tabela 1. Análise comparativa da quantidade de bactérias (UFC/mL) observadas nos diferentes tempos de avaliação de acordo com cada grupo experimental.

Grupos	UFC/mL – Inicial	UFC/mL – 24 horas	
	Média ± DP	Média ± DP	% Inibição
Controle positivo	52,07 ± 2,47 ^{Ac}	32,29 ± 2,16 ^{Bd}	38,00
Controle negativo	43,58 ± 2,37 ^{Aa}	38,91 ± 1,34 ^{Be}	10,72
TFD	51,47 ± 2,98 ^{Ac}	43,67 ± 1,05 ^{Bf}	15,15
IUP	43,98 ± 2,26 ^{Aa}	26,82 ± 1,47 ^{Bc}	39,02

Nota. Letras diferentes denotam resultados significativamente diferentes ($p < 0,05$); Letras maiúsculas comparam valores na horizontal (avaliação intragrupo, T0 vs T1); Letras minúsculas comparam valores na vertical (avaliação intergrupo, C+ vs C- vs TFD vs IUP).

4 DISCUSSÃO

O preparo químico-mecânico é um dos passos mais importantes no controle das infecções dos CR, no qual, a irrigação é uma parte essencial, pois aumenta o desbridamento e a desinfecção de áreas insuficientemente limpas pelos instrumentos (BAO *et al.*, 2016, CăPUTă *et al.*, 2019). Essa etapa realizada, principalmente por seringa e agulha, é passível de insucesso,

devido a capacidade que os micro-organismos têm de resistir ao NaClO. Nesse estudo, isso foi comprovado pela baixa inibição no controle positivo, sendo 38,0%. Atualmente, centenas de protocolos têm sido desenvolvidos visando a obtenção de um ambiente totalmente livre de micro-organismos (CăPUTĂ *et al.*, 2019).

Dentre as bactérias residuais, *E. faecalis* é a espécie mais comumente encontrada em canais tratados. Embora possua vários fatores de patogenicidade, é a sua capacidade de sobreviver em condições ambientais desfavoráveis que se destaca. Isso, fez com que muitos autores a estudasse, assim seu papel é bem estabelecido na literatura (CANCIO *et al.*, 2017; POURHAJIBAGHER; CHINIFORUSH; BAHADOR, 2019). Por esse motivo, este foi o micro-organismo escolhido para produção dos biofilmes descritos previamente.

Nesse estudo, dois métodos distintos de desinfecção para os CR foram utilizados: TFD e IUP. A palavra “fotodinâmica” diz respeito ao efeito da ativação da luz nos organismos vivos. Partindo desse princípio, a TFD pode ser descrita como um tratamento que utiliza fontes de luz para ativar um agente fotossensibilizante na presença de oxigênio produzindo espécies reativas de oxigênio, conhecidas como oxigênio singlete e radicais livres. Os principais danos nas células microbianas ocorrem em nível de parede e membrana celulares com comprometimento do DNA. Recentemente, os efeitos desinfectantes *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo* dessa terapia foram amplamente relatados e documentados (POURHAJIBAGHER; CHINIFORUSH; BAHADOR, 2019; AKBARI *et al.*, 2017; POURHAJIBAGHER *et al.*, 2016; CHINIFORUSH *et al.*, 2016, POURHAJIBAGHER; BAHADOR, 2019).

Pražmo, Godlewska e Mielczarek (2017) verificaram, em um estudo *in vitro*, a eficácia dessa terapia. Para isso, utilizaram 46 dentes humanos infectados com *E. faecalis* e avaliaram a correlação entre a repetição da TFD e a redução de bactérias intracanal. Um único ciclo PDT eliminou 45% das colônias bacterianas. Após a segunda aplicação do fotossensibilizador e o subsequente ciclo de irradiação, o número de colônias foi reduzido para 5% do inicial. Esse resultado foi superior ao deste estudo, que obteve 15,15%. Sugere-se que a baixa taxa de inibição se dê pela irrigação insuficiente somada a aplicação única da TFD, fatores que divergem da realidade da terapêutica clínica.

A TFD tem um alto potencial clínico na eliminação de *E. faecalis*. Além disso, está em uma janela terapêutica segura, que não apresenta toxicidade contra tecidos e elimina efetivamente micro-organismos sem desenvolvimento de resistência (PRAŽMO; GODLEWSKA; MIELCZAREK, 2017) Apesar disso, para essa terapia, os resultados são divergentes, tendo em vista a variedade de protocolos. São testados diferentes fotossensibilizantes, concentrações, comprimentos de onda, tempo de pré-irradiação, de

irradiação e potência da luz, o que dificulta a padronização (POURHAJIBAGHER; BAHADOR, 2019). Pourhajibagher e Bahador (2019), em sua revisão de literatura com metanálise verificaram que, embora os parâmetros da TFD possam variar muito, os protocolos levaram a uma redução na carga microbiana. Assim, destaca-se que o uso dela como adjuvante oferece benefícios adicionais.

Em contrapartida, alguns autores defendem que essa eficácia pode não ser autêntica, estando relacionada ao NaOCl usado na instrumentação. Outros pontos negativos são o tempo clínico elevado que é exigido, tendo em vista as etapas clínicas de pré-irradiação e irradiação (MUHAMMAD *et al.*, 2014). Nesse estudo, o tempo operatório total exigido para TFD foi de, no mínimo, sete minutos. Para que se obtenha um melhor tempo clínico a busca por métodos mais rápidos e de eficácia equivalente ou superior é constante. A exemplo disso, têm-se a IUP, que neste estudo, exigiu cerca de dois minutos totais de aplicação.

A IUP caracteriza-se por ser uma abordagem complementar à irrigação convencional. Em sua aplicação, o irrigante é inserido na cavidade e, em seguida, é ativado para produzir um fluxo acústico, transferindo sua energia para a substância irrigadora no interior do canal (YAYLALI; KECECI; KAYA, 2015; SIMEZO *et al.*, 2017).

A eficácia de limpeza da IUP implica na remoção efetiva de remanescentes dentinários e micro-organismos pela tensão de cisalhamento sobre as células bacterianas, produzida por energia acústica. Também, pela cavitação, definida como a criação de bolhas de vapor ou a expansão, contração e/ou distorção de bolhas de gás pré-existentes no irrigante. Esses fenômenos produzem pressão que limpa o canal radicular e destrói bactérias. Ademais, a emissão de calor potencializa a ação bactericida do NaClO (YAYLALI; KECECI; KAYA, 2015, PLADISAI; AMPORNARAMVETH; CHIVATXARANUKUL, 2016; SIMEZO *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2019).

Diferentes estudos realizados têm demonstrado que a utilização dessa técnica oferece resultados que excedem os benefícios da irrigação convencional e de outros métodos de desinfecção (BAO *et al.*, 2016, KLAUS *et al.*, 2016, LEONI *et al.*, 2017; VERDEE *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2019). Em concordância a isso, Estevez *et al.* (2017), em um estudo *in vitro*, verificaram que, ao utilizar a PUI, a penetração lateral do irrigante é intensificada, removendo maior quantidade de detritos. De modo igual, Urban *et al.* (2017), apontaram a IUP como um dos melhores métodos, dentre os que testaram, sendo bastante eficaz na remoção de detritos e *smear layer*.

Nesse estudo, a IUP foi a que apresentou melhor resultado dentre as terapias aplicadas, tendo 39,02% de inibição. Apesar disso, é insatisfatório, tendo em vista que em outros estudos

apresenta porcentagens maiores (LEONI et al, 2017; VERDEE *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2019). Essas disparidades podem ter sido causadas por diferenças no delineamento experimental, como concentração, volume dos irrigantes e tempo de irrigação. Além disso, supõe-se que outro fator importante para a baixa inibição foi a ausência de fluxo irrigatório para que fosse possível eliminar bactérias.

Diante disso e dos resultados obtidos nesse estudo, o uso de terapias complementares no tratamento dos CR vem se tornando indispensável, pois aumenta a efetividade da ação antimicrobiana do processo de irrigação contra micro-organismos persistentes e resistentes ao preparo químico-mecânico. Porém, deve-se ressaltar que, elas não devem substituir o tratamento convencional, mas ser aprimoradas e utilizadas como coadjuvantes.

As condições desse experimento, do tipo *in vitro*, não permitiram a erradicação do fator infeccioso. Somado a isto, o método de coleta e contagem de UFC/ml utilizado tem suas restrições, pois não mede a carga bacteriana presente nos túbulos dentinários, reflete apenas a contaminação presente na luz do canal. De acordo com Prażmo, Godlewska e Mielczarek (2017) é impossível determinar quantitativamente o número de bactérias remanescentes em camadas mais profundas de dentina após a aplicação de diferentes métodos de desinfecção. Em um ambiente aeróbico rico em nutrientes, *E. faecalis* penetra nos túbulos dentinários até a profundidade média de 1483,33µm. Assim, seriam necessários outros métodos para essa avaliação, como a Microscopia Eletrônica de Varredura.

Novos estudos são necessários para determinar a eficiência dos protocolos de irrigação pesquisados em diferentes anatomias e em dentes multirradiculares. Ademais, ensaios clínicos serão determinantes para estabelecer a eficácia no ambiente da cavidade oral, devido a existência de um biofilme multiespecífico em contrapartida ao do estudo que é específico.

5 CONCLUSÃO

Nesse estudo, dentre as terapias antibacterianas utilizadas, a IUP foi a mais eficaz.

REFERÊNCIAS

ALBINO SOUZA, M. *et al.* Effectiveness of final decontamination protocols against *Enterococcus faecalis* and its influence on bond strength of filling material to root canal dentin. **Photodiagnosis Photodyn. Ther.**, v. 17, n.1, p. 92-97, 2017.

AKBARI, T. *et al.* The effect of indocyanine green loaded on a novel nano-graphene oxide for high performance of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis*.

Photodiagnosis. Photodyn. Ther. n. 20, v. 1, p. 148- 153, 2017.

ANDRADE, F. B. *et al.* A new improved protocol for in vitro intratubular dentinal bacterial contamination for antimicrobial endodontic tests: standardization and validation by confocal laser scanning microscopy. **Journal Of Applied Oral Science**, v. 23, n. 6, p.591-598, 2015.

BAO, P. *et al.* In Vitro Efficacy of XP-endo Finisher with 2 Different Protocols on Biofilm Removal from Apical Root Canals. **Journal Of Endodontics**, v. 43, n. 2, p.321-325, 2016.

CANCIO, V. *et al.* Can the *Enterococcus faecalis* identified in the root canals of primary teeth be a cause of failure of endodontic treatment? **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 75, n. 6, p.423-428, 2017.

CHINIFORUSH, M. *et al.* The in vitro effect of antimicrobial photodynamic therapy with indocyanine green on *Enterococcus faecalis*: Influence of a washing vs non-washing procedure. **Photodiagnosis. Photodyn. Ther.** v. 16, n. 1, p. 119-123, 2016.

CăPUTĂ, P. E. *et al.* Ultrasonic Irrigant Activation during Root Canal Treatment: A Systematic Review. **Journal Of Endodontics**, v. 45, n. 1, p.31-44, 2019.

DONNERMEYER, D. *et al.* Removal of Calcium Hydroxide from Artificial Grooves in Straight Root Canals: Sonic Activation Using EDDY Versus Passive Ultrasonic Irrigation and XPendo Finisher. **Journal Of Endodontics**, v. 45, n. 3, p.322-326, 2019.

ESTEVEZ, R. *et al.* Effect of Passive Ultrasonic Activation on Organic Tissue Dissolution from Simulated Grooves in Root Canals Using Sodium Hypochlorite with or without Surfactants and EDTA. **Journal Of Endodontics**, v. 43, n. 7, p.1161-1165, 2017.

KLAUS W. N. *et al.* Antibacterial Efficacy of a New Sonic Irrigation Device for Root Canal Disinfection. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.42, n. 12, p.1799-1803, 2017.

LEONI, G. B. *et al.* Ex vivo evaluation of four final irrigation protocols on the removal of hard-tissue debris from the mesial root canal system of mandibular first molars. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.50, n. 1, p. 398–406, 2017.

MUHAMMAD, O.H. *et al.* Photodynamic therapy versus ultrasonic irrigation: interaction with endodontic microbial biofilm, an ex vivo study. **Photodiagnosis Photodyn Ther**, v. 11, n. 2, p. 171-181, 2014.

PLADISAI, P.; AMPORNARAMVETH, R.S.; CHIVATXARANUKUL, P. Effectiveness of Different Disinfection Protocols on the Reduction of Bacteria in *Enterococcus faecalis* Biofilm in Teeth with Large Root Canals. **Journal of Endodontics**, Oxford, v. 42, n.3, p.460-464, 2016.

PLOTINO, G.; GRANDE, N. M.; MERCADE, M. Photodynamic therapy in endodontics. **International Endodontic Journal**, v. 52, n. 6, p.760-774, 2019.

POURHAJIBAGHER, M.; CHINIFORUSH, N.; BAHADOR, A. Antimicrobial action of photoactivated C-Phycocyanin against *Enterococcus faecalis* biofilms: Attenuation of quorum-sensing system. **Photodiagnosis And Photodynamic Therapy**, v. 28, p.286-291, 2019.

- POURHAJIBAGHER, M. *et al.* Evaluation of photo-activated disinfection effectiveness with methylene blue against *Porphyromonas gingivalis* involved in endodontic infection: An in vitro study. **Photodiagnosis. Photodyn. Ther.** v. 16, n.1, p. 132-135, 2016.
- POURHAJIBAGHER, M; BAHADOR, A. Adjunctive antimicrobial photodynamic therapy to conventional chemo-mechanical debridement of infected root canal systems: A systematic review and meta-analysis. **Photodiagnosis. Photodyn. Ther.** v. 26, n. 1, p. 19-26, 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 Med. Sci.**, v. 32, n. 3, p. 655-61, 2017.
- SILVA, E. J. N. L. *et al.* Effectiveness of passive ultrasonic irrigation on periapical healing and root canal disinfection: a systematic review. **British Dental Journal**, v. 227, n. 3, p.228-234, 2019.
- SIMEZO, A. P. *et al.* Comparative Analysis of Dentinal Erosion after Passive Ultrasonic Irrigation versus Irrigation with Reciprocating Activation: An Environmental Scanning Electron Study. **Journal Of Endodontics**, v. 43, n. 1, p.141-146, 2017.
- URBAN, K. *et al.* Canal cleanliness using different irrigation activation systems: a SEM evaluation. **Clin Oral Investig**, v.21, n.1, p. 2681–2687, 2017.
- VIRDEE, S. S. *et al.* Efficacy of irrigant activation techniques in removing intracanal smear layer and debris from mature permanent teeth: A systematic review and metaanalysis. **Int Endod J**, v. 51, n. 1, p. 605–621, 2018.
- XU, J. *et al.* Influence of Endodontic Procedure on the Adherence of *Enterococcus faecalis*. **Journal Of Endodontics**, v. 45, n. 7, p.943-949, 2019.
- YAYLALI, I. E ; KECECI, A. D. ; KAYA, B. U. Ultrasonically Activated Irrigation to Remove Calcium Hydroxide from Apical Third of Human Root Canal System: A Systematic Review of In Vitro Studies. **Journal of Endodontics**, Oxford, v. 41, n.10, p. 1589-1599, 2015.

ANEXO A - Parecer consubstanciado do CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFICÁCIA ANTIBACTERIANA DA TERAPIA FOTODINÂMICA NA DESINFECÇÃO DOS CANAIS RADICULARES ASSOCIADA A DIFERENTES PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO.

Pesquisador: Daliana Queiroga de Castro

Gomes

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 79027617.8.0000.5187

Instituição Proponente: Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

SITUAÇÃO DO PROJETO: APROVADO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.452.883

Apresentação do Projeto:

Projeto intitulado: “AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA DA TERAPIA FOTODINÂMICA ASSOCIADA A DIFERENTES PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO FINAL NO COMBATE AO *ENTEROCOCCUS FAECALIS* DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES” encaminhado para análise ao Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar, in vitro, o potencial antibacteriano da TFD associada a diferentes protocolos de irrigação final no combate ao *Enterococcus faecalis* do sistema de canais radiculares.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Ausência de riscos

Benefícios: Até o momento, existem poucos trabalhos que investigaram a ação conjunta da TFD associada aos protocolos finais de irrigação na redução de *Enterococcus faecalis* dos canais radiculares. Assim, para que se empregue a TFD com a eficácia máxima, é importante que novos estudos sejam realizados para validação de protocolos efetivos na redução microbiana em dentes infectados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Setenta e cinco pré-molares unirradiculares serão selecionados para a pesquisa. Em seguida, serão contaminados com 0,1 mL de *E. Faecalis* (3×10^8 cel/mL) e divididos aleatoriamente em cinco grupos de tratamento (n = 15): Grupo C+ (Preparo químico-mecânico + irrigação

convencional com agulha); Grupo C – (controle negativo); Grupo TFD (Preparo químico-mecânico + terapia fotodinâmica); Grupo PUI (Preparo químico-mecânico + Irrigação ultrassônica passiva + Terapia fotodinâmica); Grupo XP Endo (Preparo químico-mecânico + XP endo + Terapia fotodinâmica). O conteúdo do canal será coletado com pontas de papel estéreis em três momentos: antes do preparo químico-mecânico, imediatamente após o preparo e após sete dias do período de incubação. O número de unidades formadoras de colônias de *E. faecalis* (UFC) será determinado para cada canal radicular.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Sem pendências.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ANEXO 2: - Normas da Indian Journal of Dental Research

Instructions to the Authors

[Editorial process](#) | [Types of manuscripts](#) | [Authorship criteria](#) | [Authorship credits](#) | [Sending manuscript](#) | [Manuscript preparation](#) | [Title page](#) | [Abstract page](#) | [Introduction](#) | [Methods](#) | [Ethical](#) | [Statistics](#) | [Results](#) | [Discussion](#) | [Acknowledgement](#) | [References](#) | [Tables](#) | [Figures](#) | [Legends](#) | [Patients' rights](#) | [Revised manuscript](#) | [Printing charges](#) | [Reprints](#) | [Copyrights](#) | [Contributors' form](#) | [Checklist](#) | [Download Instructions](#)

Manuscripts must be prepared in accordance with "Uniform requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journal" developed by [International Committee of Medical Journal Editors](#) (October 2001). The uniform requirements and specific requirement of Indian Journal of Dental Research are summarised below. Before sending a manuscript contributors are requested to check for the latest instructions available.

The Editorial Process

The manuscripts will be reviewed for possible publication with the understanding that they are being submitted to one journal at a time and have not been published, simultaneously submitted, or already accepted for publication elsewhere.

The Editors review all submitted manuscripts initially. Manuscripts with insufficient originality, serious scientific flaws, or absence of importance of message are rejected. The journal will not return the unaccepted manuscripts.

Other manuscripts are sent to two or more expert reviewers without revealing the identity of the authors to the reviewers. Within a period of eight to ten weeks, the contributors will be informed about the reviewers' comments and acceptance/rejection of manuscript. Articles accepted would be copy edited for grammar, punctuation, print style, and format. Page proofs will be sent to the first author, which has to be returned within five days. Correction received after that period may not be included. All manuscripts received are duly acknowledged.

Types of Manuscripts and word limits

 top

Original research articles

Randomised controlled trials, intervention studies, studies of screening and diagnostic test, outcome studies, cost effectiveness analyses, case-control series, and surveys with high response rate. Up to 2500 words excluding references and abstract.

Short Communication

Up to 1000 words excluding references and abstract and up to 8 references. A short communication contains only a short report of the case (only pertinent details) and a short discussion and references upto a maximum of 8. OR a short research that does NOT require further confirmation. Number of figures should be restricted to a maximum of 6.

Case reports

Only New / interesting / very rare cases can be reported. Cases with clinical significance or implications will be given priority, whereas, mere reporting of a rare case may not be considered. Up to 2000 words excluding references and abstract and up to 10 references.

Review articles

Systemic critical assessments of literature and data sources. Up to 3500 words excluding references and abstract. Research Gaps in Policies, Protocols and Practice: This section would cover insights on existing gaps in the policies, protocols and practice pertaining to oral health and diseases. The review formats have to highlight the need to bridge the gap in one or all aspects, so that the optimum oral health is achieved.

Letter to the Editor

Should be short, decisive observation. They should not be preliminary observations that need a later paper for validation. Up to 400 words and 4 references.

manuscript. The journal expects the authors to give post-publication updates on the subject of review. The update should be brief, covering the advances in the field after the publication of article and should be sent as letter to editor, as and when major development occur in the field. Please Note: NARRATIVE REVIEWS are strongly discouraged. Systematic review and Meta-analysis, with specific hypothesis and universally accepted methodology (Like PRISMA statements) only would be considered.

Announcements of conferences, meetings, courses, awards, and other items likely to be of interest to the readers should be submitted with the name and address of the person from whom additional information can be obtained. Up to 100 words.

Authorship criteria

 top

All persons designated as authors should qualify for authorship, and all those who qualify should be listed. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content. One or more authors should take responsibility for the integrity of the work as a whole, from inception to published article. The name and order of the authors cannot be changed once the article is provisionally accepted.

Authorship credit should be based only on:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
3. Final approval of the version to be published; AND
4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Conditions 1, 2, 3 and 4 must all be met. Acquisition of funding, the collection of data, downloading references or general supervision of the research group, by themselves, do not justify authorship. Please read ICMJE guidelines in details at <http://www.icmje.org/recommendations/browse/roles-and-responsibilities/defining-the-role-of-authors-and-contributors.html>

The order of authorship on the byline should be a joint decision of the co-authors. Authors should be prepared to explain the order in which authors are listed. **Once submitted the order cannot be changed without written consent of all the authors.**

Unless all authors have read, reviewed and approved, the manuscript, it would NOT be processed.

For a study carried out in a single institute, the number of authors should not exceed six. For a case-report and for a review article, the number of authors should not exceed four. For short communication, the number of authors should not be more than three. A justification should be included, if the number of authors exceeds these limits, even if from a Multicentric unit.

If Data is published from Dissertations/ Thesis, then it shall be declared in the covering letter - with details of the university; year; title; Guide and Co-guide ONLY with consent of the Institution

PLEASE ENSURE THAT ALL AUTHOR DETAILS ARE INCLUDED IN THE MAILING ADDRESS. PLEASE DO NOT DIRECT ALL MAILS TO SINGLE ADDRESS OR BLOCK ALL EMAIL TO AUTHORS. THIS HAS BEEN INCLUDED TO INCREASE AND INDICATE THE TRANSPARENCY OF THE SUBMISSION PROCESS

📌 Sending the Manuscript to the Journal top

Articles should be submitted online from <http://www.journalonweb.com/ijdr>. New authors will have to register as author, which is a simple two step procedure.

1. **First Page File:** Prepare the title page, covering letter, acknowledgement, etc., using a word processor program. All information which can reveal your identity should be here. Do not zip the files.
2. **Article file:** The main text of the article, beginning from Abstract till References (including tables) should be in this file. Do not include any information such as acknowledgement, your names in page headers, etc., in this file. Do not zip the files. Limit the file size to 400 kb. Do not incorporate images in the file. If the file size is large, graphs can be submitted as images separately without incorporating them in the article file to reduce the size of the file.
3. **Images:** Submit good quality color images. Each image should be less than 400 kb in size. Size of the image can be reduced by decreasing the actual height and width of the images (keep MINIMUM OF 1024x760 pixels). All image formats (jpeg, tiff, gif, bmp, png, eps, etc.) are acceptable; **JPG is most suitable**. Do not zip the files
4. **Legends:** Legends for the figures/images should be included at the end of the article file.
5. Please keep all the following mandatory forms in PDF/ JPG format only ready before commencing the submission process
 - Authorship role declaration form (in prescribed format)
 - Copyright transfer form (in prescribed format)
 - Patient image/ photo release consent form (in prescribed format)
 - NOTE: ONLY PDF/ JPG format accepted

The authors' form and copyright transfer form has to be submitted to the editorial office by post, in original with the signatures of all the authors within two weeks of online submission.

Editorial office

Dr. Anil Kohli B.D.S., M.D.S. (Lko.), FDSRCS (Eng.) D.N.B.E. (USA)
 Dr. Son's Dental Clinic
 28, Feroze Gandhi Road,
 Lajpat Nagar 3,
 New Delhi - 110284
 Tel: 011 - 29844474 / 75 / 29845500
 Fax: 011 - 29845555
 Email: editor [dot] indiajdr [at] gmail [dot] com

📌 Preparation of the Manuscript top

We have provided readymade templates for writing original research articles, case reports, and review articles. These can be utilised for writing the articles as per the instructions. The templates can be downloaded from the link provided on the top of this page.

The text of observational and experimental articles should be divided into sections with the headings: Introduction, Methods, Results, Discussion, References, Tables, Figures, Figure legends, and Acknowledgment. Do not make subheadings in these sections.

The manuscripts should be typed in A4 size (212 × 297 mm) paper, with margins of 25 mm (1 inch) from all the four sides. Use 1.5 spacing throughout. Number pages consecutively, beginning with the title page.

The language should be British English.

The font shall be preferably Times New Roman

📌 Title Page top

The title page should carry

1. Type of manuscript
2. The title of the article, which should be concise, but informative;
3. Running title or short title not more than 50 characters;
4. Name of the authors (the way it should appear in the journal), with his or her highest academic degree(s) and institutional affiliation;
5. The name of the department(s) and institution(s) to which the work should be attributed;
6. The name, address, phone numbers, facsimile numbers, and e-mail address of the contributor responsible for correspondence about the manuscript;
7. The total number of pages, total number of photographs and word counts separately for abstract and for the text (excluding the references and abstract).
8. Source(s) of support in the form of grants, equipment, drugs, or all of these; and
9. ~~Source of support in the form of grants, equipment, drugs, or all of these; and~~
11. Acknowledgements in detail

📌 Abstract Page top

The second page should carry the full title of the manuscript and an abstract (of no more than 150 words for case reports, brief reports and 250 words for original articles). The abstract should be structured and state the Context (Background), Aims, Settings and Design, Methods and Material, Statistical analysis used, Results and Conclusions. Below the abstract should provide 3 to 10 key word.

📌 Introduction

State the purpose of the article and summarize the rationale for the study or observation.

📌 Methods

Describe the selection of the observational or experimental subjects (patients or laboratory animals, including controls) clearly. Identify the age, sex, and other important characteristics of the subjects. Identify the methods, apparatus (give the manufacturer's name and address in parentheses), and procedures in sufficient detail. Give references to established methods, including statistical methods; provide references and brief descriptions for methods that have been published but are not well known; describe new or substantially modified methods, give reasons for using them, and evaluate their limitations. Identify precisely all drugs and chemicals used, including generic name(s), dose(s), and route(s) of administration.

Reports of randomised clinical trials should present information on all major study elements, including the protocol, assignment of interventions (methods of randomisation, concealment of allocation to treatment groups), and the method of masking (blinding), based on the CONSORT statement (Moher D, Schulz KF, Altman DG: The CONSORT Statement: Revised Recommendations for Improving the Quality of Reports of Parallel-Group Randomized Trials. *Ann Intern Med.* 2001;134:657-662, also available at <http://www.consort-statement.org/>).

Authors submitting review manuscripts should include a section describing the methods used for locating, selecting, extracting, and synthesising data. These methods should also be summarised in the abstract.

Ethics

When reporting experiments on human subjects, indicate whether the procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional or regional) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000 (available at http://www.wma.net/e/policy/17-c_e.htm). Do not use patients' names, initials, or hospital numbers, especially in illustrative material. When reporting experiments on animals, indicate whether the institution's or a national research council's guide for, or any national law on the care and use of laboratory animals was followed.

VERY IMPORTANT:

Please note that as per the regulations of the Government of India Notification via its Gazette publication dated 8th February 2013, all trials (human or as applicable) need to be registered with Clinical trial registry of India. The IRB/ IEC need to be registered with appropriate authorities.

It is assumed that all Indian authors' research work complies with this government policy/rules and regulations. All manuscript are published under good faith that all rules and regulations have been complied.

Statistics

When possible, quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty (such as confidence intervals). Report losses to observation (such as dropouts from a clinical trial). Put a general description of methods in the Methods section. When data are summarized in the Results section, specify the statistical methods used to analyse them. Avoid non-technical uses of technical terms in statistics, such as 'random' (which implies a randomising device), 'normal', 'significant', 'correlations', and 'sample'. Define statistical terms, abbreviations, and most symbols. Use upper italics ($P < 0.05$).

Results

Present the results in logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all the data in the tables or illustrations; emphasise or summarise only important observations.

Discussion

Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that follow from them. Do not repeat in detail data or other material given in the Introduction or the Results section. Include in the Discussion section the implications of the findings and their limitations, including implications for future research. Relate the observations to other relevant studies.

In particular, contributors should avoid making statements on economic benefits and costs unless their manuscript includes economic data and analyses. Avoid claiming priority and alluding to work that has not been completed. State new hypotheses when warranted, but clearly label them as such. Recommendations, when appropriate, may be included.

Acknowledgments (in first page file only: Not in Manuscript file)

1. contributions that need acknowledging but do not justify authorship, such as general support by a departmental chair;
2. acknowledgments of technical help; and
3. acknowledgments of financial and material support, which should specify the nature of the support. This should be the last page of the manuscript.

References

References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text (not in alphabetic order). Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in superscript. References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. Use the style of the examples below, which are based on the formats used by the NLM in Index Medicus. The titles of journals should be abbreviated according to the style used in Index Medicus. Use complete name of the journal for non-indexed journals. Avoid using abstracts as references. Information from manuscripts submitted but not accepted should be cited in the text as "unpublished observations" with written permission from the source. Avoid citing a "personal communication" unless it provides essential information not available from a public source, in which case the name of the person and date of communication should be cited in parentheses in the text. For scientific articles, contributors should obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication. If the number of authors is more than six, list the first six authors followed by et al.

Journal references

Standard journal article

Kulkarni SB, Chitre RG, Satoskar RS. Serum proteins in tuberculosis. *J Postgrad Med* 1960; 6:113-120.

Volume with supplement

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1:275-282.

Issue with supplement

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 23(1, Suppl 2):89-97.

Books and Other Monographs

Personal author(s)

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

Editor(s), compiler(s) as author

Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

Chapter in a book

Phillips SJ, Whisnart JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. pp 465-478.

Download a [PowerPoint presentation](#) on common reference styles and using the reference checking facility on the manuscript submission site.

Tables

[top](#)

Tables should be self-explanatory and should not duplicate textual material.

- Tables with more than 10 columns and 25 rows are not acceptable.
- Type or print out each table with double spacing on a separate sheet of paper. If the table must be continued, repeat the title on a second sheet followed by "(contd.)."
- Number tables, in Arabic numerals, consecutively in the order of their first citation in the text and supply a brief title for each.
- Place explanatory matter in footnotes, not in the heading.
- Explain in footnotes all non-standard abbreviations that are used in each table.
- Obtain permission for all fully borrowed, adapted, and modified tables and provide a credit line in the footnote.
- For footnotes use the following symbols, in this sequence: *, †, ‡, §, ¶, **, ††, ‡‡

Illustrations (Figures)

[top](#)

- Figures should be numbered consecutively according to the order in which they have been first cited in the text.
- Symbols, arrows, or letters used in photomicrographs should contrast with the background and should be marked neatly with transfer type or by tissue overlay and not by pen.
- Titles and detailed explanations belong in the legends for illustrations not on the illustrations themselves.
- When graphs, scatter-grams or histograms are submitted the numerical data on which they are based should also be supplied.
- The photographs and figures should be trimmed to remove all the unwanted areas. **COMPOSITE IMAGES NEED TO BE CREATED BY AUTHORS ONLY**
- **ENSURE THAT THE IMAGE SUBMITTED HAS A MINIMUM SIZE OF 1024x760 PIXELS.**
- If photographs of people are used, either the subjects must not be identifiable or their pictures must be accompanied by written permission to use the photograph.
- If a figure has been published, acknowledge the original source and submit written permission from the copyright holder to reproduce the material. A credit line should appear in the legend for figures for such figures.
- The Journal reserves the right to crop, rotate, reduce, or enlarge the photographs to an acceptable size.
- Patient image release form essential.
-

For online submission

- Submit good quality color images.
- Each image should be less than 100 kb in size. Size of the image can be reduced by decreasing the actual height and width of the images (keep up to 400 pixels or 3 inches).¹
- All image formats (jpeg, tiff, gif, bmp, png, eps, etc.) are acceptable; jpeg is most suitable.
- The images should be scanned at 72 dpi, size not more than 3x4 inches (or 300x400 pixels), with only the necessary portion of the photographs. Wherever necessary, scan at greyscale (e.g. x-rays, ECGs).
- For hard copies (to be submitted only after acceptance of the manuscript)
- Send sharp, glossy, un-mounted, colour photographic prints, with height of 4 inches and width of 6 inches.
- Each figure should have a label pasted (avoid use of liquid gum for pasting) on its back indicating the number of the figure, the running title, top of the figure and the legends of the figure. Do not write the contributor's name/s. Do not write on the back of figures, scratch, or mark them by using paper clips.
- Labels, numbers, and symbols should be clear and of uniform size. The lettering for figures should be large enough to be legible after reduction to fit the width of a printed column.
- For soft copies (to be submitted only after acceptance of the manuscript)
- Use a Compact Disc. There should be no other document, file, or material on the disc other than the images.
- Label the disc with first authors' name, short title of the article, type of image (eg. Jpeg, tiff), and file name.

Legends for Illustrations

[top](#)

- Type or print out legends (maximum 40 words, excluding the credit line) for illustrations using double spacing, with Arabic numerals corresponding to the illustrations.
- When symbols, arrows, numbers, or letters are used to identify parts of the illustrations, identify and explain each one clearly in the legend.

Protection of Patients' Rights to Privacy

[top](#)

Identifying information should not be published in written descriptions, photographs, sonograms, CT scans, etc., and pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and the patient (or parent or guardian, wherever applicable) gives informed consent for publication. Authors should remove patients' names from figures unless they have obtained informed consent from the patients. The journal abides by ICMJE guidelines:

- 1) Authors, not the journals nor the publisher, need to obtain the patient consent form before the publication and have the form properly archived. The consent forms are not to be uploaded with the cover letter or sent through email to editorial or publisher offices.
- 2) If the manuscript contains patient images that preclude anonymity, or a description that has obvious indication to the identity of the patient, a statement about obtaining informed patient consent should be indicated in the manuscript.

Sending a revised manuscript

[top](#)

While submitting a revised manuscript, contributors are requested to include, along with single copy of the final revised manuscript, a photocopy of the revised manuscript with the changes underlined in red and copy of the comments with the point to point clarification to each comment. The manuscript number should be mentioned without fail.

The authors' form and copyright transfer form has to be submitted in original with the signatures of all the contributors at the time of submission of revised copy.

Article printing charges

[top](#)

Looking to the high cost of printing and the need to maintain the high standards of this indexed journal, it is the editorial policy to charge for publication cost of the article from the author(s). The details of printing charges are as follows:

For Indian authors:

For Review, Original Research and Case Reports
- INR 8000/- for printing.

For Short Communication
- INR 5000/- for printing.

For Foreign authors:

For Review, Original Research and Case Reports
- US\$ 150 or Euro 110 or equivalent for printing.
- US\$ 20 or Euro 15 or equivalent for 25 reprints (optional).

Copyrights

The whole of the literary matter is the copyright of the Editorial Board. The Journal, however, grants to all users a free, irrevocable, worldwide, perpetual right of access to, and a license to copy, use, distribute, perform and display the work (either in pre-print or post-print format) publicly and to make and distribute derivative works in any digital medium for any reasonable non-commercial purpose, subject to proper attribution of authorship and ownership of the rights. The journal also grants the right to make small numbers of printed copies for their personal non-commercial use. The copyright form duly signed by all the authors should be submitted along with the manuscript.

Contributors' Form

 top

Please download the form from below. [Also contains Contributor's role declaration form; Patient image release form](#)

PLEASE NOTE THAT ALL AUTHORS HAVE TO PLACE THEIR SIGNATURES IN THE COPYRIGHT FORM AND AUTHORSHIP ROLE DECLARATION FORM (INITIALS).

SUBSTITUTION OF SIGNATURES MAY LEAD TO IMMEDIATE REJECTION.

Checklist

 top

(to be tick marked, as applicable and one copy attached with the manuscript)

Manuscript Title _____

Covering letter

- Previous related publication / presentations mentioned. Note: NOT all publications; Only those that pose a conflict or potential conflict
- Source of funding mentioned
- Conflicts of interest disclosed in detail

Authors

- Middle name initials provided
- Author for correspondence, with e-mail address provided
- Number of contributors restricted as per the instructions
- Identity not revealed in paper except title page (e.g. name of the institute in material and methods, citing previous study as 'our study', names on figure labels, name of institute in photographs, etc.)
- **MAKE SURE TO COPY ALL PHASES EMAILS TO ALL AUTHORS - TO ENSURE TRANSPARENCY AND ACCOUNTABILITY.**

Presentation and format

- Double spacing
- Times New Roman Font 12 size
- Margins 2.5 cm from all four sides
- Title page contains all the desired information (vide supra)
- Running title provided (not more than 50 characters)
- Abstract page contains the full title of the manuscript
- Abstract provided (not more than 150 words for case reports and 250 words for original articles)
- Structured abstract provided for an original article
- Key words provided (three or more)
- Key messages provided
- Introduction of 75-100 words
- Headings in title case (not ALL CAPITALS)
- References cited in superscript in the text without brackets
- References according to the journal's instructions, punctuation marks checked

Language and grammar

For Short Communication

- US\$ 100 or Euro 80 or equivalent for printing.
- US\$ 20 or Euro 15 equivalent for 25 reprints (optional).

Reprints

Twenty-five printed reprints and electronic reprint will be available by payment of Rs. 500/- only

- Uniformly British English
- Abbreviations spelt out in full for the first time
- Numerals from 1 to 10 spelt out
- Numerals at the beginning of the sentence spelt out

Tables and Figures

- No repetition of data in tables and graphs and in text
- Actual numbers from which graphs drawn, provided
- Figures necessary and of good quality (colour)
- Table and figure numbers in Arabic letters (not Roman)
- Labels pasted on back of the photographs (no names written)
- Figure legends provided (not more than 40 words)
- Patients' privacy maintained (if not permission taken)
- Credit note for borrowed figures/tables provided
-

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, que me conduziu em todos os passos e me presenteou com uma das mais belas profissões: Cirurgião-dentista.

Aos meus pais, Maria José Guimarães e Alípio Morais, pelo amor, cuidado, apoio e incentivo pela busca dos meus sonhos.

Ao meu irmão, Willy Guimarães, pelo companheirismo e suporte em todos os momentos da vida.

A minha orientadora, Daliana Queiroga, pelo carinho, ensinamentos, conselhos e oportunidades que me tornaram uma pessoa melhor.

As minhas amigas, Eveline Rocha e Gabriella Neves, por toda a ajuda, afeto e amizade que quero levar para o resto da vida.

A minha dupla, Isaac Almeida, e amigos: Matheus Pedrosa, Viviane Costa, Hianni Roscele, José Assis, Raíssa Costa, Ana Luíza, Jennifer Raíza, Alisson Thiago, Rafaela Pequeno, Luíza Jordânia e Alberto Alves; por fazer desses anos de graduação momentos mais felizes, apesar dos estresses.

Ao meu companheiro de pesquisa, Rodrigo Queiroga, pela grande contribuição para minha vida acadêmica.

A Diego Filipe por toda colaboração durante a graduação.

A professora Ana Cláudia e Equipe do LABDEM por ter possibilitado a realização desse estudo.

A UEPB pelo financiamento da pesquisa desenvolvida na quota 2017/2018.

Por fim, sou feliz por todos que me ajudaram e apoiaram nessa jornada.

