



AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DE UM PROTOCOLO DE DESINFECÇÃO DA SUPERFÍCIE DO LENÇOL DE BORRACHA PARA ISOLAMENTO ABSOLUTO POR SUBSTÂNCIAS ANTIMICROBIANAS POR MEIO DE CULTURA

Palavras-Chave: ENDODONTIA, MICROBIOLOGIA, DESINFECÇÃO

Autores(as):

SARAH ACKEL MÜLLER FERREIRA, FOP/UNICAMP

ANA BEATRIZ SAFADY LOPES, FOP/UNICAMP

Dr^a. JULIANA DELATORRE BRONZATO, FOP/UNICAMP

Prof^a. Dr^a. BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES (orientadora), FOP/UNICAMP

INTRODUÇÃO

A presença de microrganismos no sistema de canais radiculares é o que determina o início e a persistência de lesões periapicais inflamatórias (Kakehashi et al., 1965). Dessa forma, muitos estudos têm sido conduzidos com o objetivo de identificar os componentes desta comunidade nos diversos tipos de infecções endodônticas, como as primárias e secundárias (Gomes et al., 2004, 2021a; Alves-Silva et al., 2023).

A assepsia em endodontia visa a controlar todas as fontes potenciais de contaminação do canal radicular. A introdução inadvertida de bactérias no sistema de canais radiculares pode ocorrer quando a cadeia asséptica é quebrada durante os procedimentos (Zahran et al., 2022), sendo isso um obstáculo não apenas para o sucesso do tratamento, como também para análises do conteúdo microbiano encontrado nos condutos radiculares (Möller, 1966). Uma medida para evitar contaminação pela saliva do paciente é o uso do isolamento absoluto do campo operatório com lençol de borracha (Cochran et al., 1989) e adequação do elemento dentário com uma restauração previamente ao tratamento endodôntico (Ray e Trope, 1995).

O campo operatório, assim como o dente a ser tratado, precisa ser submetido a uma desinfecção previamente ao procedimento endodôntico, sendo peróxido de hidrogênio, tintura de iodo, clorexidina, álcool e hipoclorito de sódio, em diversas concentrações, as principais substâncias utilizadas para essa finalidade (Gomes et al., 2004, 2006, 2021b; Malmberg et al., 2016). Assim, de forma a evitar viés por contaminação das amostras coletadas do interior dos canais radiculares, estudos que se propõem a pesquisar sobre a população microbiana presente na infecção endodôntica devem verificar a efetividade dos protocolos de desinfecção do campo operatório, garantindo que este esteja isento de microrganismos que possam interferir nas análises (Möller, 1966).

Dessa forma, o presente trabalho, que compreende um estudo-piloto, teve como objetivo avaliar, por meio de cultura bacteriana e fúngica, a efetividade de um protocolo de desinfecção do lençol de borracha utilizado para isolamento absoluto durante o tratamento endodôntico.

METODOLOGIA

Os procedimentos para coleta das amostras do experimento foram realizados no Laboratório de Microbiologia da área de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas (FOP-Unicamp), dentro de uma câmara de fluxo laminar, cuja superfície de trabalho foi protegida com um campo de TNT esterilizado. Todas as coletas foram realizadas por meio de fricção da superfície de um lençol de borracha (Madeitex, Santa Branca, SP, Brasil), durante 1 minuto, com *swabs* previamente embebidos em soro fisiológico estéril, de forma a otimizar a cultura. Após as coletas, os *swabs* foram acondicionados em microtubos do tipo *ependorf* previamente esterilizados contendo 1,0 mL do meio de transporte pré-reduzido VMGA III (Viability Medium Goteborg Agar) (Dahlén et al., 1993). Para que isso fosse possível, os *swabs* tiveram suas hastes cortadas com uma tesoura íris reta esterilizada, de forma que a extremidade contendo o esfregaço pudesse ser incluída dentro do *ependorf*. O lençol de borracha foi manipulado com uma pinça esterilizada durante todo o procedimento para evitar contaminação.

Para verificar a condição inicial do lençol de borracha, a primeira coleta (C1) foi realizada pela fricção de um *swab* sobre superfície do lençol imediatamente após a abertura da embalagem, sem que o produto tivesse contato com qualquer potencial contaminante. Após a coleta inicial, foi realizado, por meio de fricção das substâncias com *swabs* estéreis, o seguinte protocolo de desinfecção: 30 segundos com H₂O₂ a 30% (v/v), seguido por 30 segundos com NaOCl 2,5% (Drogal Farmacêutica Ltda, Piracicaba, SP, Brasil), o qual foi neutralizado com solução de tiosulfato de sódio a 5% (Drogal Farmacêutica Ltda, Piracicaba, SP, Brasil). A segunda coleta (C2) do experimento foi realizada após essa etapa. Em seguida, para contaminação do lençol, 10 µL de saliva foram pipetados sobre o produto e espalhados por sua superfície com auxílio de um *swab*. Após 5 minutos, foi realizada a terceira coleta (C3). Após nova desinfecção da superfície, seguindo o protocolo já descrito acima, foi realizada a quarta coleta (C4).

Para a amostra C3, por ser esperada uma concentração elevada de microrganismos na coleta, foi realizada uma diluição seriada até uma concentração de 10⁻⁴. A diluição foi realizada pipetando 100 µL da amostra (armazenada em VMGA III) em um *ependorf* contendo 900 µL de um meio de cultura. Em seguida, após uma breve agitação em vórtex, 100 µL do conteúdo desse *ependorf* foram pipetados em outro contendo 900 µL do mesmo meio de cultura, e assim por diante. As diluições foram realizadas nos meios Sabouraud (SAB) e Fastidious Anaerobe Broth (FAB).

Para a cultura (Figura 1), foram pipetados, no centro de cada placa, 25 µL de amostra, os quais foram espalhados pela superfície do meio com auxílio de alças de inoculação. As amostras foram incubadas em placas contendo 5% de sangue de carneiro desfibrinado e Fastidious Anaerobe Agar (FAA - LAB M, Heywood, Lancashire, Reino Unido). Para as amostras C1, C2 e C4, a cultura foi

realizada com o conteúdo dos microtubos de VMGA III contendo as coletas. Para a amostra C3, foi utilizado o conteúdo do microtubo que consistia na amostra diluída a uma concentração de 10^{-4} em meio FAB. Essas placas foram incubadas anaerobicamente por até 14 dias. Além disso, as amostras também foram semeadas em placas contendo meio de cultura Agar Sabouraud-dextrose acrescido de 0,1% de cloranfenicol – seletivo para detecção de espécies de levedura. Para as amostras C1, C2 e C4, a cultura foi realizada com o conteúdo dos microtubos de VMGA III contendo as coletas. Para a amostra C3, foi utilizado o conteúdo do microtubo que consistia na amostra diluída a uma concentração de 10^{-4} em meio SAB. Essas placas foram incubadas aerobicamente a 37 °C (Endo et al., 2013).

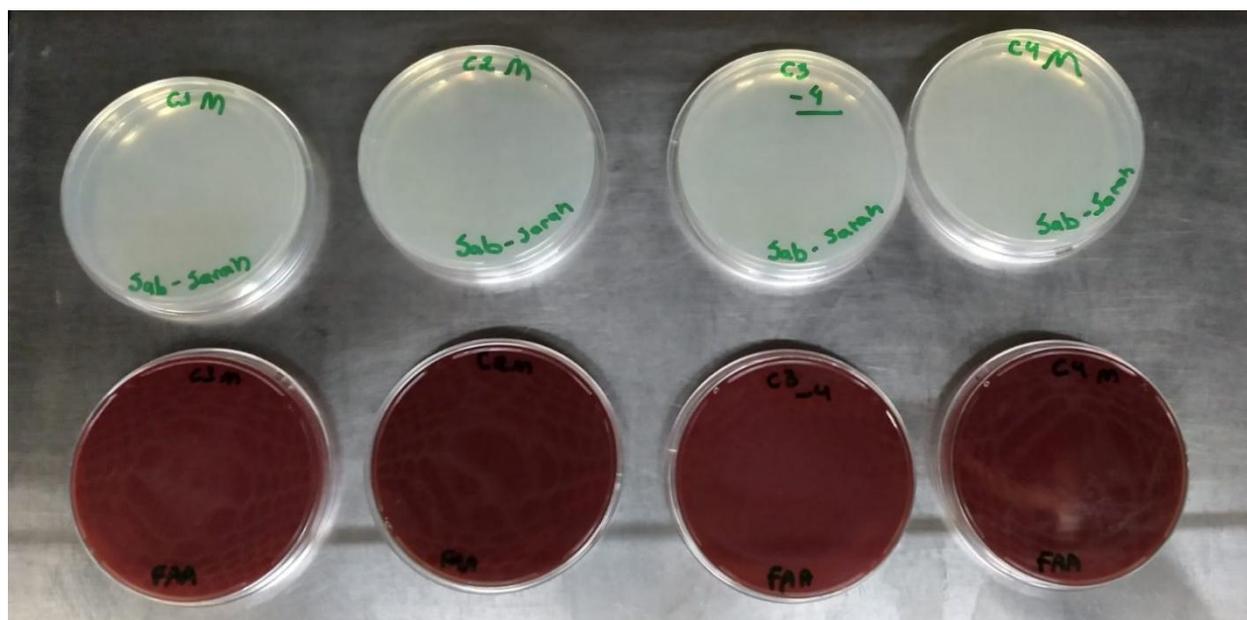


Figura 1 – Placas de cultura contendo os meios Fastidious Anaerobe Agar e Agar Sabouraud. Para as coletas C1, C2 e C4, a cultura foi realizada a partir do conteúdo do microtubo contendo VMGA III. Para a coleta C3, foi realizada uma diluição seriada até que a amostra estivesse a uma concentração de 10^{-4} .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao observar as placas após o período de incubação, não houve crescimento de microrganismos nas placas semeadas com a amostra C1, indicando que, imediatamente após a abertura da embalagem, o lençol de borracha não se encontrava contaminado com os microrganismos cultiváveis nos meios utilizados no estudo.

Da mesma forma, nas placas semeadas com C2, amostra coletada após realização do protocolo de desinfecção, também não houve crescimento microbiano.

Já nas placas semeadas com a amostra C3, coletada após a contaminação do lençol com saliva, foi observada a proliferação de colônias microbianas, tanto no meio FAA, quanto no meio Agar-Sabouraud, seletivo para espécies fúngicas.

Assim como para as amostras C1 e C2, nas placas semeadas com a amostra C4, coletada após nova desinfecção do lençol de borracha, também foi observada ausência de crescimento de microrganismos.

É importante ressaltar a necessidade de desinfecção do lençol de borracha após procedimentos de abertura coronária e durante o tratamento endodôntico sempre que houver necessidade para evitar a contaminação dos canais radiculares (Gomes et al., 2004, 2006, 2021b; Malmberg et al., 2016). Como perspectiva futura deste trabalho, será realizada a verificação da eficiência dos protocolos de desinfecção na remoção de DNA bacteriano e fúngico por meio de *primers* universais 16S e 18S, respectivamente.

CONCLUSÕES

Imediatamente após a abertura da embalagem, o lençol de borracha não se encontrava contaminado com os microrganismos cultiváveis nos meios utilizados no estudo. Além disso, o protocolo de desinfecção testado foi efetivo para eliminação dos microrganismos cultiváveis presentes na saliva utilizada para contaminação da superfície do lençol.

APOIO

Apoio: FAPESP 2015/23479-5, 2021/13871-6, 2017/25090-3, CNPq 303852/2019-4, 421801/2021-2, CAPES Finance Code 001, PIBIC.

BIBLIOGRAFIA

Alves-Silva EG, Arruda-Vasconcelos R, Louzada LM, de-Jesus-Soares A, Ferraz CCR, Almeida JFA, et al. Effect of antimicrobial photodynamic therapy on the reduction of bacteria and virulence factors in teeth with primary endodontic infection. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2023 Mar;41:103292.

Cochran MA, Miller CH, Sheldrake MA. The efficacy of the rubber dam as a barrier to the spread of microorganisms during dental treatment. *J Am Dent Assoc*. 1989 Jul;119(1):141-4.

Dahlén G, Pipattanagovit P, Rosling B, Möller AJ. A comparison of two transport media for saliva and subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol*. 1993 Dec;8(6):375-82.

Endo MS, Ferraz CCR, Zaia AA, Almeida JFA, Gomes BPFA. Quantitative and qualitative analysis of microorganisms in root-filled teeth with persistent infection: Monitoring of the endodontic retreatment. *Eur J Dent*. 2013 Jul;7(3):302-309.

Gomes BP, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol*. 2004 Apr;19(2):71-6.

Gomes BP, Pinheiro ET, Sousa EL, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, et al. Enterococcus faecalis in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006 Aug;102(2):247-53.

Gomes BPFA, Bronzato JD, Almeida-Gomes RF, Pinheiro ET, Sousa ELR, Jacinto RC. Identification of Fusobacterium nucleatum in primary and secondary endodontic infections and its association with clinical features by using two different methods. *Clin Oral Investig*. 2021a Nov;25(11):6249-6258.

Gomes BPFA, Francisco PA, Godoi EP Jr, Endo MS, Barbosa-Ribeiro M, Delboni MG, et al. Identification of Culturable and Nonculturable Microorganisms, Lipopolysaccharides, and Lipoteichoic Acids From Root Canals of Teeth With Endodontic Failure. *J Endod*. 2021b Jul;47(7):1075-1086.

Takehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1965 Sep;20:340-9.

Malmberg L, Björkner AE, Bergenholtz G. Establishment and maintenance of asepsis in endodontics - a review of the literature. *Acta Odontol Scand*. 2016 Aug;74(6):431-5.

Möller AJ. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Methodological studies. *Odontol Tidskr*. 1966 Dec 20;74(5):Suppl:1-380.

Ray HA, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J*. 1995;28(1):12-18.

Zahran S, Mannocci F, Koller G. Assessing the Iatrogenic Contribution to Contamination During Root Canal Treatment. *J Endod*. 2022 Apr;48(4):479-486.