



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Faculdade de Ciências da Saúde

THAMIRES DA CUNHA MIRANDA

**INFLUÊNCIA DA IONTOFORESE NA PENETRAÇÃO DE DIGLUCONATO DE
CLOREXIDINA E BROMETO DE DOMIFENO EM CANAIS RADICULARES E
TÚBULOS DENTINÁRIOS, E SEU POTENCIAL NA DESINFECÇÃO
ENDODÔNTICA**

Thamires da Cunha Miranda

**INFLUÊNCIA DA IONTOFORESE NA PENETRAÇÃO DE DIGLUCONATO DE
CLOREXIDINA E BROMETO DE DOMIFENO EM CANAIS RADICULARES E
TÚBULOS DENTINÁRIOS, E SEU POTENCIAL NA DESINFECÇÃO
ENDODÔNTICA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade
de Brasília, como requisito parcial à obtenção
do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Taís Gratieri

Brasília

2026

THAMIRES DA CUNHA MIRANDA

INFLUÊNCIA DA IONTOFORESE NA PENETRAÇÃO DE DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA E BROMETO DE DOMIFENO EM CANAIS RADICULARES E TÚBULOS DENTINÁRIOS, E SEU POTENCIAL NA DESINFECÇÃO ENDODÔNTICA.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas

Tese defendida e aprovada em 30 de março de 2026.

Banca examinadora

Prof^a. Dr^a. Taís Gratieri

Universidade de Brasília

Prof^a. Dr^a. Taia Maria Berto Rezende

Universidade de Brasília

Prof^a. Dr^a. Raquel Petrilli Eloy

Universidade Federal do Ceará

Prof^a. Dr^a. Stephânia Fleury Taveira

Universidade Federal de Goiás

Prof^a. Dr^a. Pérola de Oliveira Magalhães Dias Batista

Universidade de Brasília

Brasília

2026

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à Deus e à minha família, especialmente à minha mãe **Taís Miranda**, ao meu pai **Iberê Miranda** e à minha irmã **Larissa Miranda** por todo apoio, presença, amor e carinho. Ao meu noivo **Matheus Vidotti**, pela presença, amor, cuidado comigo e contribuição com seus conhecimentos de elétrica.

Agradeço profundamente à minha orientadora, professora **Dra. Taís Gratieri**, por toda a orientação, confiança e apoio ao longo desta trajetória. Nossa caminhada começou em 2018, quando iniciei um estágio no LTMAC, que posteriormente se tornou minha iniciação científica e seguiu para o mestrado e mudança de nível para o doutorado. Sou muito grata por todos os ensinamentos, conselhos e “puxões de orelha”, fundamentais para meu crescimento científico, profissional e pessoal.

Ao professor **Laudimar Oliveira**, pela valiosa contribuição com seus conhecimentos em Endodontia. Sou grata pela parceria ao longo do trabalho e pela sua prontidão em sempre se mostrar disposto a ajudar.

Agradeço à **Universidade de Brasília** e ao **LTMAC** por proporcionarem ambientes em que pude desenvolver minha formação profissional, bem como ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas** e aos seus docentes, que contribuíram para a realização e o bom andamento desta pesquisa.

Expresso também minha gratidão à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) pelo apoio financeiro por meio da bolsa de doutorado e da bolsa de doutorado sanduíche, que possibilitou a realização de um período de seis meses de pesquisa na Universidade de Genebra. Agradeço ainda à Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (**FAP-DF**) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**CNPq**) pelo suporte financeiro destinado à participação em congressos científicos.

Aos professores do LTMAC, bem como aos amigos incríveis que este tempo no laboratório me proporcionou, em especial, **Fernando Augusto de Sá**, **Geisa Barbalho**, **Camila Cardoso**, **João Paulo Brito**, **Rayssa Hellen** e **Jayanaraian Andrade**.

Agradeço também ao **Laboratório de Microbiologia (FCE-UnB)**, às professoras responsáveis, pela parceria e estrutura que contribuíram com este trabalho, e pelos amigos que lá fiz, **Daniel Oliveira** e **Rebeca Dias**.

Ao professor **Yogeshvar N. Kalia** e aos seus alunos da Universidade de Genebra, por me receberem em seu grupo de pesquisa e por contribuírem de forma significativa para meu crescimento acadêmico e pessoal durante esse período.

“Fé inabalável é somente aquela que pode encarar a razão, face a face, em todas as épocas da Humanidade.”

- Allan Kardec

RESUMO

MIRANDA, T. C. Influência da iontoforese na penetração de digluconato de clorexidina e brometo de domifeno em canais radiculares e túbulos dentinários, e seu potencial na desinfecção endodôntica, 2026. Tese de doutorado em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2026.

O sucesso da terapia endodôntica depende da adequada desinfecção do sistema de canais radiculares, porém, falhas persistem mesmo com tecnologias que visam aumentar a penetração de antimicrobianos. A iontoforese, capaz de favorecer a difusão de substâncias em tecidos biológicos, ainda é pouco explorada na endodontia. Este estudo avaliou sua influência na penetração de agentes antimicrobianos, como CHX e BD, em canais radiculares e túbulos dentinários de dentes humanos. Foi realizada uma prova de conceito utilizando azul de metileno, corante hidrossolúvel e catiônico, aplicado em canais radiculares bovinos e humanos com eletrodos de Ag/AgCl, com penetração avaliada por microscopia óptica. Em dentes bovinos, limas de aço inoxidável e de níquel-titânio foram testadas como eletrodos inertes. A iontoforese foi aplicada a 0,5 e 1,5 mA por 5 e 15 min, sendo comparada à aplicação passiva do corante. Em dentes humanos, aplicou-se iontoforese a 1 mA por 1 min, observando-se maior penetração no canal radicular e túbulos dentinários ($p < 0,05$). Diferenças foram observadas entre aplicação passiva e iontoforética, com melhor desempenho dos eletrodos de Ag/AgCl a 1,5 mA por 5 min, enquanto os de aço inoxidável apresentaram melhor distribuição a 0,5 mA por 15 min. Devido à natureza eletroquímica dos eletrodos inertes e ao seu menor desempenho, avaliou-se o uso do tampão HEPES em pele suína para prevenir a redução de pH, entretanto, o tampão reduziu a permeação e penetração de LD. A resistência elétrica de dentes humanos foi determinada pela Lei de Ohm ($\sim 4 \times 10^4 \Omega$). Ensaio de MIC, CBM e time-kill curve demonstraram maior potência de CHX e BD em relação ao NaOCl, indicando alternativas mais seguras para desinfecção associada à iontoforese. A microscopia eletrônica de varredura, realizada em diferentes grupos experimentais (CHX 2%, CHX 2% + iontoforese, BD 2%, BD 2% + iontoforese, só iontoforese), sugere diminuição da carga microbiana com a iontoforese (1 mA/1 min) mas, por ser um exame qualitativo necessita de análises quantitativas de viabilidade microbiana. Os achados evidenciam resultados favoráveis, reforçando o potencial da iontoforese como uma técnica auxiliar promissora na endodontia e estimulando o desenvolvimento de novas pesquisas voltadas ao aprimoramento do tratamento endodôntico.

Palavras-chave: Iontoforeses, eletrodos, túbulos dentinários, endodontia.

ABSTRACT

MIRANDA, T. C. Influence of iontophoresis on the penetration of chlorhexidine digluconate and domifene bromide into root canals and dentinal tubules, and its potential in endodontic disinfection. Doctoral thesis in Pharmaceutical Sciences – Faculty of Health Sciences, University of Brasília, Brasília, 2026.

The success of endodontic therapy depends on adequate disinfection of the root canal system; however, failures persist even with technologies aimed at enhancing antimicrobial penetration. Iontophoresis, which promotes the diffusion of substances through biological tissues, remains underexplored in endodontics. This study evaluated its influence on the penetration of antimicrobial agents, such as CHX and BD, into root canals and dentinal tubules of human teeth. A proof of concept was conducted using methylene blue, a hydrophilic and cationic dye, applied to bovine and human root canals with Ag/AgCl electrodes, with penetration assessed by optical microscopy. In bovine teeth, stainless steel and nickel-titanium files were tested as inert electrodes. Iontophoresis was applied at 0.5 and 1.5 mA for 5 and 15 minutes and compared with passive dye application. In human teeth, iontophoresis was applied at 1 mA for 1 minute, showing increased penetration into the root canal and dentinal tubules ($p < 0.05$). Differences were observed between passive and iontophoretic application, with Ag/AgCl electrodes performing better at 1.5 mA for 5 minutes, while stainless steel electrodes showed better distribution at 0.5 mA for 15 minutes.

Due to the electrochemical nature of inert electrodes and their lower performance, the use of HEPES buffer was evaluated in porcine skin to prevent pH reduction; however, the buffer reduced LD permeation and penetration. The electrical resistance of human teeth was determined using Ohm's law ($\sim 4 \times 10^4 \Omega$). MIC, MBC, and time-kill curve assays demonstrated greater potency of CHX and BD compared to NaOCl, indicating safer alternatives for disinfection associated with iontophoresis. Scanning electron microscopy, performed across different experimental groups (2% CHX, 2% CHX + iontophoresis, 2% BD, 2% BD + iontophoresis, iontophoresis alone), Findings suggest a reduction in microbial load with iontophoresis (1 mA/1 min); however, as this is a qualitative assessment, quantitative analyses of microbial viability are required. These findings demonstrate favorable results, reinforcing the potential of iontophoresis as a promising adjunctive technique in endodontics and encouraging further research aimed at improving endodontic treatment.

Keywords: Iontophoresis, electrodes, dentinal tubules, endodontics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do dente (MIRANDA et al., 2023).

Figura 2. Túbulos dentinários (PANAGAKOS; SCHIFF; GUIGNON, 2009).

Figura 3. Principais componentes anatômicos do sistema de canais radiculares (VERTUCCI, 2005).

Figura 4. Representação diagramática da classificação de Vertucci para morfologia do canal radicular. (VERTUCCI; SEELIG; GILLIS, 1974; AHMED et al., 2016).

Figura 5. Representação da (A) pulpotomia e da (B) pulpectomia (MIRANDA et al., 2023).

Figura 6. Preparo biomecânico.

Figura 7. Representação do canal radicular preenchido com Gutta-percha (FERRARI, 2019).

Figura 8. Funcionamento da iontoforese utilizando eletrodos de Ag/AgCl (KALIA et al., 2004).

Figura 9. Molécula do digluconato de clorexidina (GARCÍA et al., 2017).

Figura 10. Molécula do Brometo de Domifeno (COUNCIL OF EUROPE PUBLISHING, 2008).

Figura 11. Estruturas desenvolvidas para execução da prova de conceito em dentes bovinos.

Figura 12. Representação esquemática do preparo do eletrodo de AgCl.

Figura 13. Representação da reação de redução do eletrodo de AgCl para formar o eletrodo de Ag. (Adaptado de SÁ, 2015).

Figura 14. Modelo bicompartimental personalizado produzido por impressão 3D.

Figura 15. Corte de dentes bovinos.

Figura 16. Determinação da resistência elétrica dos dentes.

Figura 17. Representação esquemática do modelo IontoBite.

Figura 18. Aplicação da iontoforese com modelo bicompartimental personalizado.

Figura 19. Aplicação da iontoforese utilizando fio de prata pura e AgCl como eletrodo de retorno.

Figura 20. Esquema representando a aplicação da iontoforese a 1mA nos eppendorfs.

Figura 21. Corte transversal de incisivos bovinos mostrando os túbulos dentinários.

Figura 22. Aplicação do azul de metileno por 5 min e 15 min.

Figura 23. Penetração passiva e iontoforética do azul de metileno em todos os terços dos dentes bovinos.

Figura 24. Comparação entre as aplicações iontoforéticas a 0,5 mA por 15 min e 1,5 mA por 5 min.

Figura 25. Resistência elétrica de dentes humanos não acessados.

Figura 26. Resistência elétrica dos terceiros molares humanos acessados e não acessados.

Figura 27. Espectros do CHX e do BD antes e após a corrente elétrica.

Figura 28. Dispositivo para aplicação de iontoforese durante tratamento endodôntico.

Figura 29. Penetrações passiva e iontoforética do azul de metileno utilizando limas de aço inoxidável.

Figura 30. Penetrações passiva e iontoforética do azul de metileno utilizando limas de níquel-titânio.

Figura 31. Diferenças entre as aplicações iontoforéticas com diferentes tipos de eletrodos.

Figura 32. Penetração do azul de metileno com eletrodos de Ag/AgCl comparada à de fio de prata pura.

Figura 33. Penetração do azul de metileno em dentes humanos.

Figura 34. Curva analítica da LD em metanol nas concentrações de 5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL, 30 ng/mL, 40 ng/mL, 50 ng/mL e 60 ng/mL.

Figura 35. Oxidação do eletrodo de aço inoxidável na presença de tampão HEPES.

Figura 36. Penetração e permeação da LD através da pele suína com aplicação iontoforética.

Figura 37. Concentrações inibitórias mínimas do CHX, BD e NaOCl.

Figura 38. Curva de tempo morte do CHX.

Figura 39. Curva de tempo morte do BD.

Figura 40. Curva de tempo morte do NaOCl.

Figura 41. Log₁₀UFC/mL no decorrer do tempo (min) do NaOCl, CHX, CHX associado a iontoforese, BD, BD associado a iontoforese e iontoforese isolada em comparação ao controle de crescimento bacteriano.

Figura 42. Redução da população microbiana (%) no decorrer do tempo (min) do NaOCl, CHX, CHX associado a iontoforese, BD, BD associado a iontoforese e iontoforese isolada.

Figura 43. Microscopia eletrônica de varredura da formação de biofilme de *E. faecalis* nas regiões cervical, média e apical.

Figura 44. Microscopia eletrônica de varredura da ação do CHX 2% contra biofilme de *E.*

faecalis nas regiões cervical, média e apical.

Figura 45. Microscopia eletrônica de varredura da ação do CHX 2% associado a iontoforese a 1mA por 1min contra biofilme de *E. faecalis* nas regiões cervical, média e apical.

Figura 46. Microscopia eletrônica de varredura da ação do BD 0,1% contra biofilme de *E. faecalis* nas regiões cervical, média e apical.

Figura 47. Microscopia eletrônica de varredura da ação do BD 0,1% associado a iontoforese a 1mA por 1min contra biofilme de *E. faecalis* nas regiões cervical, média e apical.

Figura 48. Microscopia eletrônica de varredura da ação do NaOCl 2,5% contra biofilme de *E. faecalis* nas regiões cervical, média e apical.

Figura 49. Microscopia eletrônica de varredura da ação da iontoforese contra biofilme de *E. faecalis* nas regiões cervical, média e apical.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações de CHX e BD ($\mu\text{g/mL}$) para varredura em espectrofotômetro UV-Vis.

Tabela 2. Variação de pH após as aplicações iontoforéticas com eletrodos de aço inoxidável e níquel-titânio.

Tabela 3. Valores médios do fator de matriz correspondentes a cada concentração analisada.

Tabela 4. Dados de precisão e exatidão.

Tabela 5. Definição da concentração do tampão HEPES.

LISTA DE SIGLAS

CHX: Digluconato de clorexidina

BD: Brometo de domifeno

NaOCl: Hipoclorito de sódio

LD: Lidocaína

MEV: Microscopia eletrônica de varredura

BHI: Brain Heart Infusion (meio de cultura)

MH: Müller Hinton (meio de cultura)

NiTi: Níquel-titânio

MIC: Concentração Inibitória Mínima

CBM: Concentração Bactericida Mínima

CLSI: Clinical & Laboratory Standards Institute

PBS: Tampão fosfato salino

FM: Fator de matriz

SUMÁRIO

Introdução.....	1
Objetivo geral.....	3
Objetivos específicos.....	3
Revisão da literatura.....	4
Estrutura do dente e anatomia dos canais radiculares.....	4
Microbiologia das infecções endodônticas.....	6
Biofilmes.....	7
Tratamento convencional.....	8
Pulpotomia e pulpectomia.....	8
Preparo biomecânico.....	9
Substâncias irrigadoras e medicamentos intracanal.....	10
Obturação.....	11
Complicações.....	11
Tecnologias utilizadas.....	12
Iontoforese.....	13
Digluconato de clorexidina.....	15
Brometo de domifeno.....	16
Materiais e métodos.....	17
Prova de conceito em dentes bovinos – desenvolvimento de protótipo.....	18
Preparo dos eletrodos de AgAgCl para aplicação de iontoforese.....	19
Avaliação do papel da iontoforese dentária.....	20
Determinação da resistência elétrica dos dentes humanos.....	22
Avaliação da estabilidade de CHX e BD frente a corrente elétrica.....	23
Desenvolvimento do modelo Iontobite para aplicação da iontoforese dentária.....	24
Avaliação da influência de diferentes materiais de eletrodos na eficácia da iontoforese.....	24
Dentes bovinos.....	24
Dentes humanos.....	25
Avaliação da possibilidade de utilizar sistema tampão para manutenção do pH.....	25
Validação do método bioanalítico.....	27
Definição da concentração do tampão.....	29
Estudos de permeação.....	29
Ensaio de concentração inibitória mínima e bactericida mínima.....	29

Ensaio de curva de tempo de morte (time kill curte).....	30
Avaliação in vitro da ação do CHX e do BD com e sem iontoforese.....	31
Desenvolvimento de biofilme de <i>E. faecalis</i> nos canais radiculares de dentes humanos.....	32
Avaliação ex vivo da ação do CHX e do BD com e sem iontoforese.....	33
Resultados e discussão.....	35
Prova de conceito em dentes bovinos.....	35
Determinação da resistência elétrica dos dentes humanos.....	39
Avaliação da estabilidade de CHX e BD frente a corrente elétrica.....	42
Desenvolvimento do modelo Iontobite para aplicação da iontoforese dentária.....	43
Avaliação da influência de diferentes materiais de eletrodos na eficácia da iontoforese.....	44
Dentes bovinos.....	44
Dentes humanos.....	47
Avaliação da possibilidade de utilizar sistema tampão para manutenção do pH.....	49
Ensaio de concentração inibitória mínima e bactericida mínima.....	53
Ensaio de curva de tempo de morte (time kill curte).....	43
Avaliação in vitro da ação do CHX e do BD com e sem iontoforese.....	56
Desenvolvimento de biofilme de <i>E. faecalis</i> nos canais radiculares de dentes humanos.....	58
Avaliação ex vivo da ação do CHX e do BD com e sem iontoforese.....	59
Conclusão.....	62

1. Introdução

A endodontia é a ciência voltada à prevenção e tratamento das alterações patológicas da polpa dentária, de todo o sistema de canais radiculares e dos tecidos periapicais. Por ser tecido conjuntivo, a polpa responde aos estímulos externos por meio da resposta inflamatória, denominada pulpite, cuja dor é o principal sinal (PRADO, 2017).

A inflamação da polpa pode ter origem no contato direto ou indireto com agentes físicos, químicos, biológicos e térmicos. (RICUCCI; LOGHIN; SIQUEIRA, 2014). Na maioria dos casos, os agentes biológicos são os responsáveis pelas lesões, as bactérias podem acessar o espaço endodôntico por meio de lesões cariosas, exposições pulpares traumáticas e fraturas (DIOGUARDI et al., 2019) causando infecções no espaço endodôntico, cujo tratamento envolve a desinfecção dessas áreas.

O tratamento endodôntico atual baseia-se no preparo biomecânico, no controle microbiano e na finalização com a obturação completa do sistema de canais radiculares (PEREIRA et al., 2018). Porém, casos de insucesso endodôntico ocorrem, entre outros motivos, pela permanência dos microrganismos em localidades anatômicas inacessíveis aos instrumentos e medicamentos, como túbulos dentinários, istmos e outras irregularidades (POZOS-GUILLEN et al., 2016).

Dentre os outros motivos que contribuem para a falha no tratamento endodôntico, prevalece a deficiência na desinfecção dos canais radiculares, atingindo 33,4% dentre os 66% de casos gerais de complicações (NAGATA et al., 2020). Além de que, nos casos onde há lesão perirradicular instalada, que ocorrem devido a contaminação, aumentam - se as chances onde o tratamento não é concluído em somente um dia, variando de 59,3% a 93,9%, dentre alguns estados brasileiros, os casos onde o paciente deve retornar ao consultório para dar continuidade ao tratamento (NAGATA et al., 2020).

Além de que, casos clínicos de recidiva das infecções endodônticas relatados na literatura (BARDALES-ALCOCER et al., 2021; FARAJOLLAHI et al., 2023; ASGARY; PARHIZKAR, 2023) demonstram que o tratamento atual encontra muitos desafios devido a complexa anatomia dos canais radiculares e pelo fato de que tais infecções são mediadas por biofilme (GERGOVA et al., 2016). Diversos microrganismos são responsáveis por esta infecção, porém *Enterococcus faecalis* é a principal bactéria encontrada (SIQUEIRA; RÔÇAS, 2022; PRADA et al., 2019), devido sua capacidade de viver em ambientes relativamente inadequados (CHANDRA et al., 2015). Por isso, é essencial o desenvolvimento de novas tecnologias para melhorar a desinfecção do espaço endodôntico.

A iontoforese é um sistema de corrente elétrica que facilita a penetração de fármacos em tecidos biológicos (KALIA et al., 2004). A literatura descreve que a iontoforese melhorou o potencial de desinfecção das soluções de cobre e iodeto de potássio aplicadas num modelo *ex vivo* de dentes uniradiculares recentemente extraídos com a coroa removida (GERGOVA et al, 2016), porém a técnica utilizada não apresentou parâmetros que confirmem a segurança em sua aplicação, além de não informar qual tipo de eletrodo utilizado.

A iontoforese também tem sido estudada no fornecimento de nanopartículas de quitosana a incisivos humanos contaminados com *Enterococcus faecalis* (IONESCU et al., 2020), utilizando eletrodos de aço inoxidável. No entanto, as nanopartículas são estruturas complexas que poderiam obstruir os canais radiculares. Além disso, a iontoforese vem sendo estudada para tratamento de hipersensibilidade, utilizando um eletrodo conectado a uma moldeira plástica revestida com tiras de metal condutoras e um eletrodo de metal segurado pelo paciente (KUMAR et al., 2018).

Nesse contexto, a iontoforese pode ser utilizada com moléculas de ação antimicrobiana que têm características físico-químicas favoráveis a sua aplicação, como o digluconato de clorexidina e o brometo de domifeno.

O digluconato de clorexidina é amplamente utilizado na endodontia, devido à ação antimicrobiana, além disso, apresenta alta solubilidade em meio aquoso e capacidade de se dissociar em cátions. De forma semelhante, o brometo de domifeno, um sal de amônio quaternário, apresenta alta solubilidade em água, caráter catiônico permanente e atividade antimicrobiana de amplo espectro. Essas propriedades físico-químicas, especialmente a natureza catiônica de ambas as moléculas, favorecem sua aplicação por iontoforese, principalmente pelo mecanismo de eletromigração, podendo contribuir para o aumento da penetração dessas substâncias nos canais radiculares e túbulos dentinários e, conseqüentemente, potencializando a desinfecção dessas estruturas.

Este trabalho propõe a aplicação da iontoforese com essas substâncias para aumentar sua penetração nos canais radiculares de dentes humanos, visando à desinfecção do espaço endodôntico. Além disso, busca realizar uma prova de conceito com o azul de metileno, um corante catiônico e hidrossolúvel, cujas propriedades também favorecem sua aplicação por iontoforese.

Dessa forma, a aplicação da iontoforese visa auxiliar o tratamento endodôntico, reduzindo a probabilidade de gerar lesões periapicais futuras decorrentes da persistência da infecção, bem como índices de retratamento.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é avaliar o papel da iontoforese no aumento da penetração do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno nos canais radiculares e túbulos dentinários de dentes humanos, visando auxiliar o tratamento endodôntico.

2.2 Objetivos específicos

- Executar prova de conceito para avaliar o papel da iontoforese no aumento da penetração de azul de metileno nos canais radiculares e túbulos dentinários de dentes bovinos;
- Determinar a resistência elétrica dos dentes humanos;
- Avaliar a intensidade de absorbância do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno frente a corrente elétrica;
- Desenvolver um modelo inovador para aplicação de iontoforese dentária em dentes humanos;
- Avaliar a influência de diferentes materiais de eletrodos na ação da iontoforese;
- Avaliar a possibilidade de utilizar sistema tampão para manutenção do pH;
- Executar ensaios de concentração inibitória mínima, concentração bactericida mínima, curva de tempo de morte (Time-Kill) do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno contra *Enterococcus faecalis*;
- Avaliar *in vitro* a ação antimicrobiana do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno contra *Enterococcus faecalis* de forma passiva (sem iontoforese) e ativa (com iontoforese);
- Desenvolver biofilme de *Enterococcus faecalis* nos canais radiculares de dentes humanos;
- Avaliar *ex vivo* a ação antimicrobiana do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno contra biofilme de *Enterococcus faecalis* de forma passiva (sem iontoforese) e ativa (com iontoforese).

3. Revisão da literatura

3.1 Estrutura do dente e anatomia dos canais radiculares

A estrutura do dente é baseada em esmalte, dentina e polpa (Fig. 1) (MIRANDA et al., 2023). O esmalte é uma estrutura resistente que consiste em 96% de hidroxiapatita de cálcio e 4% de matéria orgânica e água (NANCI, 2018). Sob a camada de esmalte, a dentina é uma estrutura conjuntiva mineralizada e avascular composta por 70% de hidroxiapatita, 20% de matéria orgânica e 10% de água (NANCI, 2018). A matéria orgânica da dentina é composta por colágeno tipo I, tipo III e traços de colágeno tipo V e tipo VI (NANCI, 2018). A característica mais distinta da dentina são os túbulos dentinários (Fig. 2), uma rede de canais que se estende radialmente da polpa em direção à junção amelo-dentina e ao cemento. Essas estruturas desempenham funções como hidratação do dente, além de funcionarem como um canal para transdução de sinais físicos para respostas sensoriais (AROLA et al., 2017).

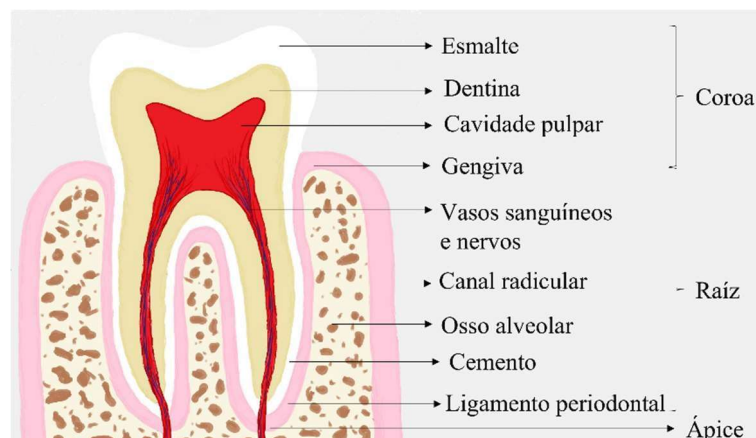


Figura 1. Estrutura do dente (MIRANDA et al., 2023).

A distribuição dos túbulos dentinários é irregular na dentina, eles iniciam-se na borda polpa-dentina e cruzam-na em linha reta próximo à raiz do dente e em forma de S na região coronal em direção à junção dentina-esmalte. Os diâmetros dos túbulos variam de 2,5 μm próximo à parede pulpar a 0,8 μm a cerca de 3,3 mm dela. Conseqüentemente, sua densidade diminui de cerca de 45.000 mm² túbulos para 19.000 mm² túbulos da coroa à raiz (AROLA et al., 2017; JUD et al., 2016; GARBEROGLIO; BRANNSTROM, 1976).

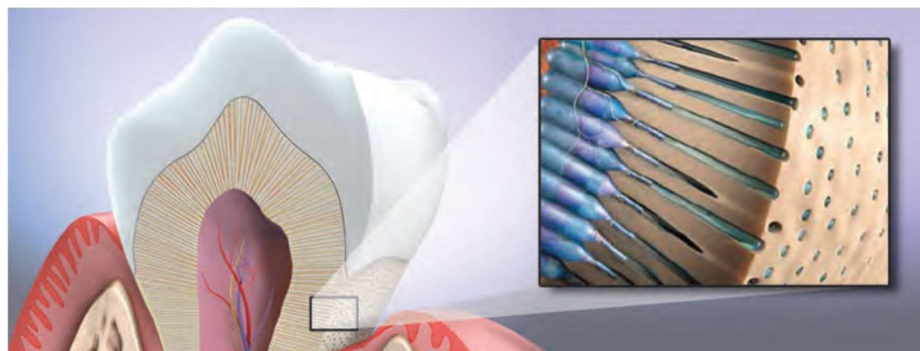


Figura 2. Túbulo dentinários (PANAGAKOS; SCHIFF; GUIGNON, 2009).

A polpa, estrutura envolvida pela dentina, é um tecido conjuntivo (NANCI, 2018) amplamente innervado e vascularizado (YU; ABBOTT, 2007). Ela tem início na câmara pulpar, na região coronal do dente, e tem continuidade nos canais radiculares. Essas estruturas terminam no forame apical, onde se encontra o periodonto, e é por onde os nervos e os vasos sanguíneos saem do dente, entrando em contato com a circulação sistêmica (NANCI, 2018).

Os canais radiculares possuem uma estrutura complexa, pois além do canal radicular principal, existem canais laterais e acessórios que podem se estender da polpa até o periodonto e ocorrem 73,5% na região apical, 11,4% na região média e 6,3% na região cervical. Além da presença de delta apicais na região do forame apical (Fig. 3) (VERTUCCI, 2005).

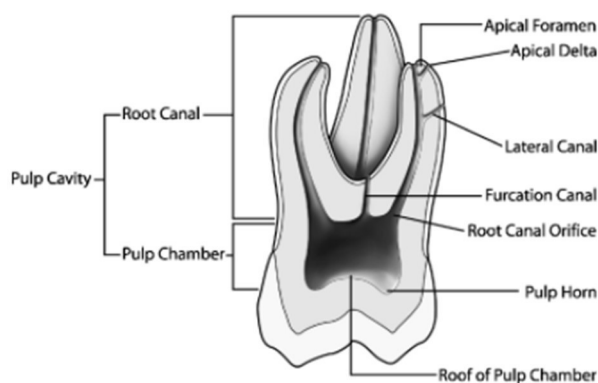


Figura 3. Principais componentes anatômicos do sistema de canais radiculares (VERTUCCI, 2005).

Na maioria dos casos, o número de canais radiculares corresponde ao número de raízes, mas uma raiz de formato oval pode ter mais de um canal. Além disso, quase todos os canais radiculares são curvos, podendo até ter formato de “S”. Essas curvaturas podem causar problemas durante a modelagem e a desinfecção, pois não são evidentes em uma radiografia padrão (VERTUCCI, 2005).

Na dentição humana, uma ampla gama de variações anatômicas em cada tipo de dente foi

relatada em termos de número e formato de raízes e canais radiculares, como mostra a figura 4. Um estudo mais recente mostra uma nova classificação, onde é possível concluir que a anatomia dos canais radiculares é ainda mais complexa (AHMED et al., 2016).

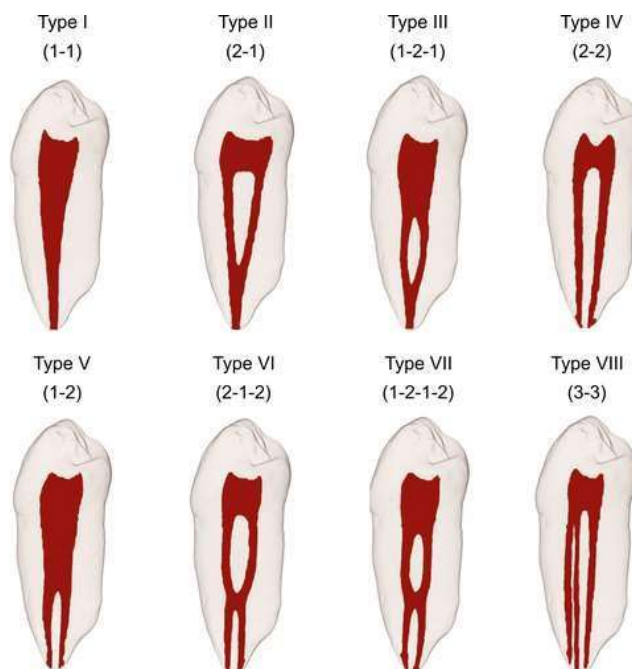


Figura 4. Representação diagramática da classificação de Vertucci para morfologia do canal radicular. Tipo I: um único canal da câmara pulpar ao ápice. Tipo II: dois canais separados saindo da câmara pulpar, mas unindo-se no ápice para formar um canal. Tipo III: no canal que sai da câmara pulpar, dividindo-se em dois dentro o corpo da raiz e fundindo-se novamente para sair como um canal. Tipo IV: dois canais separados e distintos da câmara pulpar até o ápice. Tipo V: um canal saindo da câmara pulpar e dividindo-se antes do ápice em dois canais separados e distintos no forame apical. Tipo VI: dois canais separados saindo da câmara pulpar, fundindo-se no corpo da raiz e redividindo-se em dois canais distintos no ápice. Tipo VII: um canal saindo da câmara pulpar, dividindo-se e depois reunindo-se dentro do corpo da raiz e, finalmente, redividindo em dois canais distintos abaixo do ápice. Tipo VIII. Três canais separados e distintos da câmara pulpar para o ápice (VERTUCCI; SEELIG; GILLIS, 1974; AHMED et al., 2016).

3.2 Microbiologia das infecções endodônticas

As infecções endodônticas são classificadas em infecção primária e secundária. A infecção primária é caracterizada por polpa dentária inflamada e infecção do canal radicular por microorganismos de diversas espécies. Já a infecção secundária ou reinfecção pós-tratamento, que pode ocorrer como uma infecção emergente, persistente ou recorrente, desenvolve-se novamente nos dentes após uma aparente cura por um tratamento anterior (NEELAKANTAN et al., 2017).

Nas infecções endodônticas primárias, as espécies de bactérias Gram-negativas mais encontradas são *Fusobacterium nucleatum*, *Dialister* spp., *Porphyromonas endodontalis*,

Porphyromonas gingivalis, *Prevotella* spp., *Tannerella forsythia* e *Treponema* spp. Já as bactérias Gram-positivas são *Parvimonas micra*, *Filifactor alocis*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Olsenella uli*, *Actinomyces* spp., *Streptococcus* spp., *Propionibacterium* spp., e *Cutibacterium acnes* (SIQUEIRA; RÔÇAS, 2022).

As infecções secundárias também são mistas, porém com uma microbiota menos diversificada do que dentes com doença primária, especialmente aqueles com obturações radiculares adequadas, mas dentes com tratamentos anteriores inadequados apresentam riqueza bacteriana semelhante a dentes com infecções primárias (SIQUEIRA; RÔÇAS, 2022).

Cocos e bastonetes Gram-positivos, como *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., e *Actinomyces* spp. prevalecem no sistema de canais radiculares durante uma infecção secundária (SAKKO; TJÄDERHANE; RICHARDSON, 2016).

Enterococcus faecalis é um coco Gram-positivo anaeróbio facultativo e tem sido o principal microrganismo endontrado em infecções secundárias (SIQUEIRA; RÔÇAS, 2022; PRADA et al., 2019), pelo fato de que também forma biofilme e vive em um ambiente relativamente inadequado (CHANDRA et al., 2015) sem nutrientes. Além disso, comumente exibe resistência contra medicamentos intracanaís e irrigantes, alta salinidade (PRADA et al., 2019) e pHs alcalinos (SAKKO; TJÄDERHANE; RICHARDSON, 2016).

3.3 Biofilmes

Biofilmes são comunidades de microrganismos rodeadas por uma matriz polissacarídica extracelular uniforme autoproduzida (COSTERTON et al., 1995) aderida a superfícies biológicas ou não biológicas (CHARACKLIS, 1981). O processo de adesão varia de acordo com os fatores de virulência de cada espécie (COSTERTON et al., 1995).

Após adesão na superfície dos canais radiculares (PRADA et al., 2019), as bactérias se multiplicam, levando à formação de microcolônias que, por sua vez, crescem e produzem uma substância polimérica extracelular por *quorum sensing* e, na última etapa, as bactérias se dispersam do biofilme formado e iniciam um novo ciclo em outros locais (MAHAMUNI-BADIGER et al., 2020). A adesão das bactérias depende da rugosidade, hidrofobicidade ou hidrofiliçidade, porosidade e topologia dos poros da superfície (MAHAMUNI-BADIGER et al., 2020).

Nas infecções endodônticas, os biofilmes são encontrados nas paredes dos canais radiculares e túbulos dentinários, aumentando as chances de biofilme residual após o tratamento e, portanto, de recorrência (GERGOVA et al., 2016).

Além disso, os biofilmes conferem resistência ao tratamento endodôntico, pois protegem as bactérias dos irrigantes e medicamentos intracanal devido à alta densidade celular bacteriana envolvida pela matriz polimérica extracelular em comparação com as bactérias planctônicas (NEELAKANTAN et al., 2017). Além disso, a possibilidade de formação de biofilme multiespécies aumenta ainda mais a dificuldade de tratamento (GRANDE; PUCA; MURARO, 2020). Como as infecções dos canais radiculares são mediadas por biofilme, o sucesso do tratamento depende da capacidade da intervenção escolhida para desestruturá-las de forma eficiente (NEELAKANTAN et al., 2017).

3.4 Tratamento convencional

O principal objetivo do tratamento endodôntico é a redução significativa da carga microbiana no sistema de canais radiculares (NAGATA et al., 2020) eliminando os microrganismos ou tornando o ambiente inadequado para o crescimento microbiológico. As etapas básicas do tratamento convencional envolvem preparo biomecânico, controle microbiano e obturação de canais radiculares (PEREIRA et al., 2019).

3.4.1 Pulpotomia e pulpectomia

As alterações pulpare inflamatórias (pulpites) podem ser classificadas em reversíveis ou irreversíveis (RICUCCI; LOGHIN; SIQUEIRA, 2014). A pulpite reversível é uma condição clínica na qual a viabilidade e a função pulpar podem ser mantidas, com remoção apenas parcial da polpa, procedimento chamado de pulpotomia (SANTOS et al., 2021) (Fig. 5). A pulpite irreversível caracteriza o estágio avançado da inflamação. A polpa está sob agressão e apenas a remoção do agente patogênico não é suficiente para cessar a dor, ou seja, a polpa não apresenta condições de voltar ao estado de normalidade após a remoção da causa (RICUCCI; LOGHIN; SIQUEIRA, 2014). A pulpectomia (Fig. 5), caracterizada pela remoção completa da polpa, é o tratamento recomendado nesse caso (RICUCCI; LOGHIN; SIQUEIRA, 2014).

Nos casos em que a pulpite irreversível não é tratada, pode evoluir para necrose pulpar (LEVIN et al., 2009) e casos em que outras medidas resolutivas são necessárias como (i) cirurgia endodôntica, (ii) extração dentária, (iii) hemiseção ou (iv) reimplante (YAMAGUCHI et al., 2018).

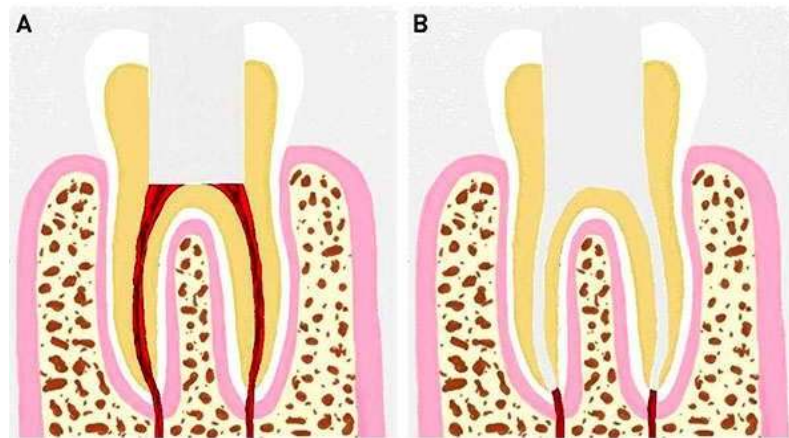


Figura 5. Representação da (A) pulpotomia e da (B) pulpectomia (MIRANDA et al., 2023).

3.4.2 Preparo biomecânico

O preparo biomecânico (Fig. 6) é realizado com limas manuais ou rotatórias de diferentes tamanhos (AMORIM et al., 2022) que são utilizados de acordo com o tipo de dente que está sendo tratado (LIANG; YUE, 2022). A função desse preparo é remover o tecido pulpar e resíduos necróticos, eliminando agentes biológicos e patógenos do canal radicular enquanto ele está sendo alargado e moldado (CAYO-ROJAS et al., 2021; CHALLAGULLA et al., 2023). Dentre as limas manuais encontram-se as limas tipo K e Hedström, removendo a polpa infectada e criando espaço para os irrigantes (RICUCCI et al., 2014). Já as limas rotatórias de níquel-titânio (NiTi) podem ser utilizadas de forma manual ou motorizada (FROTA et al., 2013) e funcionam com a técnica de força balanceada, em que o canal radicular é preparado por diferentes ângulos de rotação, no sentido anti-horário para cortar a dentina e no sentido horário para remover os detritos remanescentes (LIANG; YUE, 2022). Dessa forma, o canal radicular é desinfetado, alargado e moldado para o processo de obturação.

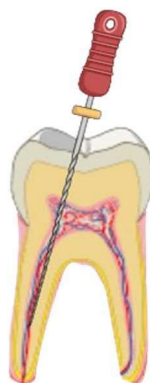


Figura 6. Preparo biomecânico.

3.4.3 Substâncias irrigadoras e medicamentos intracanal

Concomitante a utilização de limas no preparo biomecânico, são utilizadas substâncias irrigadoras com atividade antimicrobiana para auxiliar na eliminação dos microrganismos e para lubrificar os canais durante o processo (HAAPASALO et al., 2014).

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é o irrigante mais utilizado no tratamento endodôntico, devido ao seu efeito antimicrobiano eficaz e capacidade de dissolução de tecidos. Suas concentrações variam de 0,5% a 5,25% (RAVINANTHANAN et al., 2022; DIOGUARDI et al., 2018; RUKSAKIET et al., 2020), sendo a concentração de 2,5% a mais utilizada (RUKSAKIET et al., 2020). Mesmo que concentrações mais elevadas de NaOCl possam exercer atividade antimicrobiana mais eficaz, elas podem levar ao aumento da citotocidade e irritação do tecido periapical (RUKSAKIET et al., 2020).

Outra substância utilizada é o digluconato de clorexidina em concentração de 2% (ARIAS-MOLIZ et al., 2015; SANTANA et al., 2020), com a vantagem de que a toxicidade é consideravelmente menor que a do NaOCl (RUKSAKIET et al., 2020).

Agentes quelantes, como EDTA 17% e ácido cítrico 10% e 1%, apesar de não possuírem atividade antimicrobiana, também são utilizados na endodontia com o objetivo de remover resíduos orgânicos dos canais radiculares, como o *smear layer*, resultantes do processo de instrumentação (KAUSHAL; BANSAL; MALHAN, 2020; DIOGUARDI et al., 2018). O etanol 95% também pode ser utilizado na fase final de desinfecção dos canais radiculares para criar um ambiente mais seco, o que permite uma maior profundidade de penetração de cimentos endodônticos no momento da obturação (DIOGUARDI et al., 2018).

Além das substâncias irrigadoras, medicamentos intracanal com atividade antimicrobiana também são utilizados, eles são colocados no interior do canal radicular para inibir o crescimento microbiano entre as consultas. Eles reduzem a inflamação e a dor, eliminam o exsudato apical, controlam a reabsorção radicular inflamatória e previnem a contaminação entre as consultas (AHMAD et al., 2022).

O hidróxido de cálcio é o principal medicamento utilizado (MAIA et al., 2020; KARAMIFAR; TONDARI, 2021; SARRAF et al., 2023). É uma base forte e seu mecanismo de ação envolve a dissociação iônica de íons Ca^{2+} e OH^- (MOHAMMADI; DUMMER, 2011), modificando os lipopolissacarídeos da parede celular (AHMAD et al., 2022). Alguns antibióticos também são utilizados, como a pasta tripla antibiótica, que é composta por metronidazol, ciprofloxacino e minociclina (MALU; KHUBCHANDANI, 2022). O digluconato de clorexidina também pode ser usado nos casos de necrose pulpar (SANTANA et al., 2020).

3.4.4 Obturação

A obturação (Fig. 7) tem o objetivo de preencher o sistema de canais radiculares para fornecer um ambiente o mais hermético possível, evitando futuras infiltrações microbianas e protegendo os tecidos perirradiculares de microrganismos remanescentes (TOMSON; POLYCARPOU; TOMSON, 2014). Este processo é alcançado com a utilização de materiais que podem ser modificados e adaptados à forma do sistema de canais radiculares, como Gutta-percha e cimentos endodônticos (PIRANI; CAMILLERI, 2023).

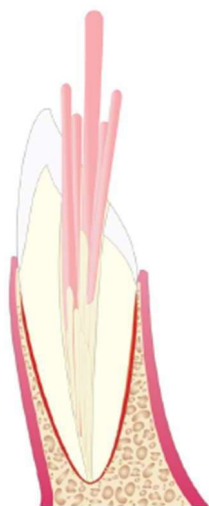


Figura 7. Representação do canal radicular preenchido com Gutta-percha (FERRARI, 2019).

3.5 Complicações

A complexa anatomia dos canais radiculares torna a terapia endodôntica desafiadora, pois o preparo biomecânico, as soluções irrigadoras e os medicamentos intracanal não alcançam de maneira efetiva tamanho número de irregularidades dos canais radiculares, bem como os túbulos dentinários (YAMAGUCHI et al., 2018). Além de que as infecções endodônticas são mediadas por biofilme, dessa forma, há permanência de microrganismos nessas localidades inacessíveis (POZOS-GUILLEN et al., 2016) levando a falhas no tratamento.

As falhas do tratamento endodôntico geram infecções que persistem após o tratamento, podendo evoluir para patologias como periodontite apical (SIQUEIRA et al., 2014) ou ainda casos mais graves (YAMAGUCHI et al., 2018).

Há diversos casos clínicos na literatura (ROZAINAH, N. A. G. N.; FARAH, A. N.; KAROBARI, 2020; PEREZ, C.; FINELLE, G.; COUVRECHEL, 2020; KARAMIFAR; TONDARI, 2021) relatando que os pacientes tiveram que retornar ao consultório para refazer o tratamento após meses ou anos. As queixas mais comuns eram de dor exacerbada, além de casos mais intensos em que a infecção atingiu o nervo alveolar inferior, causando parestesia do

lábio inferior (RIYABI; SAAD, 2018; BUCHANAN et al., 2023; PATEL et al., 2021). Outro caso clínico mostrou que a paciente apresentou uma fístula na região externa do rosto e, após diversos diagnósticos errados de diferentes profissionais, o profissional dentista constatou que a causa era a recidiva de um tratamento de canal anteriormente realizado (SARRAF et al., 2023).

Dessa forma, há uma constante busca de novas tecnologias para melhorar a desinfecção do espaço endodôntico.

3.6 Tecnologias utilizadas

Levando em consideração os desafios que a endodontia apresenta, algumas tecnologias vêm sendo estudadas para auxiliar o tratamento endodôntico como (i) ultrassom, (ii) terapia fotodinâmica, (iii) laser (MIRANDA et al., 2023) e (iv) microscópio operatório (BERGENHOLTZ 2016).

O ultrassom gera um movimento rápido dos irrigantes em um vórtice circular ao redor da lima vibratória, definido como fluxo acústico (URBAN et al., 2017) com o objetivo de atingir mais regiões do espaço endodôntico, porém estudos mostram que o ultrassom foi mais eficaz próximo à lima de vibração em comparação com a região apical (TSE; CHEUNG, 2020). Além disso, a penetração da solução de irrigação nos túbulos dentinários também foi melhor nos terços cervicais do canal radicular do que nos terços médio e apical (AKCAY ET AL., 2017). A terapia fotodinâmica utiliza um agente fotosensibilizador para causar danos ao DNA do microrganismo (DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004) e foi eficaz contra *Enterococcus faecalis* associada a digluconato de clorexidina 2%, no entanto, esse efeito foi inferior ao da solução de irrigação de hipoclorito de sódio a 2,5% (SAMIEI ET AL., 2016), o que pode ser explicado por uma possível baixa difusão do agente fotossensibilizador pelas irregularidades do canal radicular e túbulos dentinários (SOUZA ET AL., 2010).

O Er:YAG laser, acoplado a uma peça de mão, ativa a solução irrigante em uma técnica de transmissão fotoacústica iniciada por fótons, removendo o smear layer (lama dentinária) decorrente da instrumentação, e expondo os túbulos dentinários por atividade fotomecânica ou fotoablação da dentina. Como resultado, uma onda de choque fotoacústica significativa e profunda é criada, permitindo o movimento tridimensional dos irrigantes dentro dos canais radiculares apenas aplicando a ponta na área coronal sem a necessidade de se aproximar das áreas apicais (DIVITO; LLOYD, 2012; WEN et al., 2021). Porém, um estudo mostra que a penetração do azul de metileno e da indocianina verde nos canais radiculares não obtiveram diferença estatística significativa, principalmente na região apical, em comparação ao grupo

controle, representado pela aplicação dos corantes sem o laser (KOSARIEH et al., 2021). Além de que a aplicação do laser também não foi suficiente para remover biofilmes dos canais radiculares (PETERS et al., 2011), o que mostra que a tecnologia não é suficiente para atingir todas as irregularidades do espaço endodôntico e necessita de aprimoramento.

Já o microscópio operatório tem sido amplamente utilizado em endodontia e odontologia operatória e muitos progressos foram feitos usando essa tecnologia na melhoria dos resultados da terapia de canal radicular e cirurgia endodôntica (QIANG; ZHI, 2020), porém problemas durante a instrumentação ainda podem ocorrer, mesmo com a tecnologia permitindo melhor visualização do espaço endodôntico durante a instrumentação dos canais radiculares (BUCHANAN et al., 2023; ONG, 2019; AL-MANEI, K; AL-MANEI, 2021).

Como foi possível observar, essas tecnologias ainda apresentam desvantagens, necessidades de aprimoramento e falhas na desinfecção, principalmente na região apical. Então, esforços são essenciais em implantar uma nova tecnologia, que seja eficiente e auxilie na penetração de fármacos no sistema de canais radiculares, todas as suas irregularidades, e que traga mais praticidade e conforto ao paciente.

3.7 Iontoforese

A iontoforese é uma técnica não invasiva que se baseia na aplicação de uma corrente elétrica moderada para aumentar a liberação de fármacos, carregados ou não, através de membranas biológicas. Um dispositivo iontoforético baseia-se em uma fonte de energia e dois compartimentos referentes aos eletrodos positivo (ânodo) e negativo (cátodo) (KALIA et al., 2004).

Os eletrodos mais utilizados na iontoforese podem ser classificados como eletrodos inertes, que são de materiais como aço inoxidável, platina, carbono ou alumínio, e eletrodos reversíveis, como os de prata e cloreto de prata (Ag/AgCl). Os eletrodos inertes não participam das reações eletroquímicas, mas provocam hidrólise da água, podendo alterar o pH da solução doadora de fármaco, aumentando a concentração de íons H^+ que competem com o fármaco positivamente carregado, diminuindo seu número de transporte (KALIA et al., 2004). Já as trocas eletroquímicas dos eletrodos de Ag/AgCl ocorrem em uma voltagem inferior à necessária para causar hidrólise da água (PANCHAGNULA et al., 2000; KALIA et al., 2004).

A iontoforese pode ocorrer através de mecanismos como eletromigração e eletrosmose (GRATIERI; KALARIA; KALIA, 2011). A eletromigração refere-se ao movimento ordenado dos íons na presença de uma corrente elétrica aplicada, onde a formulação com o fármaco ionizado é colocada no compartimento do eletrodo de mesma carga, enquanto o eletrodo de

retorno é colocado em outro local do corpo para que o circuito elétrico seja completo (KALIA et al., 2004). Já a eletrosmose está relacionada ao fluxo de um volume de solvente e movimentação de contra-íons quando uma diferença de potencial elétrico é aplicada. Se a membrana biológica está carregada negativamente, por exemplo, o transporte de cátions é favorecido, na tentativa de neutralizar as cargas negativas desta membrana (KALIA et al., 2004). Os mecanismos de eletromigração e eletrosmose estão ilustrados na figura 8.

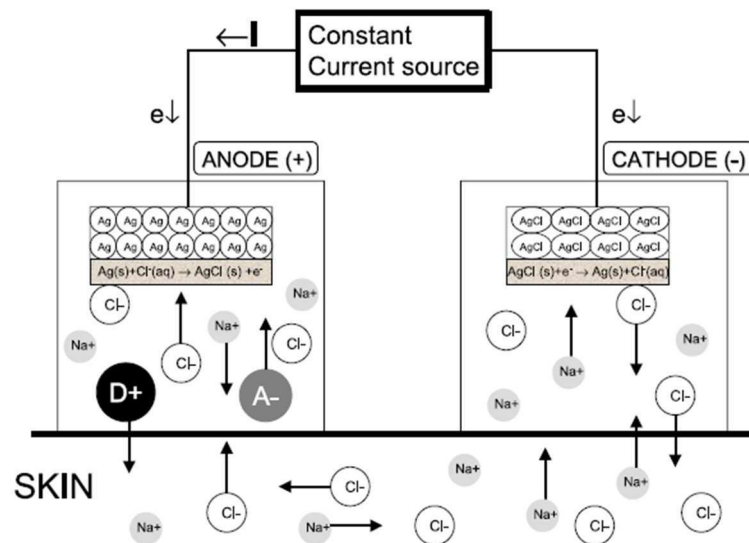


Figura 8. Funcionamento da iontoforese utilizando eletrodos de Ag/AgCl (KALIA et al., 2004).

Levando em consideração que a iontoforese já se apresenta de forma promissora, aumentando a penetração de substâncias em outras membranas biológicas (GRATIERI et al., 2014), seu uso também pode ser promissor na endodontia, aumentando a distribuição de substâncias antimicrobianas nos canais radiculares e outras irregularidades, e melhorando a desinfecção do espaço endodôntico (GERGOVA et al, 2016; IONESCU et al., 2020).

A literatura descreve, em estudo *in vitro*, a utilização combinada de nanopartículas de quitosana e iontoforese, evidenciando aumento da atividade antibiofilme dessas nanopartículas e melhora na desinfecção dos canais radiculares nas regiões cervical, média e apical do dente (IONESCU et al., 2020). Dessa forma, a iontoforese tem se mostrado uma estratégia não invasiva promissora para a desinfecção do espaço endodôntico.

Entretanto, nesse mesmo estudo, a iontoforese foi realizada utilizando eletrodo de aço inoxidável inserido no interior do canal radicular, enquanto o eletrodo de retorno foi posicionado em uma estrutura que simulava o ligamento periodontal. O aço inoxidável caracteriza-se como um eletrodo inerte, podendo promover a hidrólise da água e gerar íons hidrônio e hidroxila, os quais competem com o fármaco ionizado, reduzindo seu número de

transporte.

Outro estudo demonstrou que a iontoforese potencializou a ação do iodeto de potássio, do cobre e do hidróxido de cálcio na desinfecção de canais radiculares humanos extraídos. Nesse experimento, os dentes foram posicionados com as raízes inseridas em tubos do tipo Eppendorf acoplados a um suporte, contendo caldo Brain Heart Infusion, no qual foi inserido o eletrodo de retorno. Um fragmento de algodão embebido nas soluções medicamentosas foi introduzido no interior do canal radicular do dente infectado e conectado ao outro polo do dispositivo por meio de cliques e fios, funcionando como eletrodo ativo (GERGOVA et al., 2016).

A partir desses achados, observa-se que a iontoforese apresenta potencial promissor na desinfecção de canais radiculares, contudo, ainda carece de padronização quanto à sua forma de aplicação.

Portanto, para aproveitar ao máximo a iontoforese, ainda são necessários estudos que tornem essa tecnologia mais segura e com melhor aplicabilidade clínica, incluindo a definição adequada dos parâmetros que influenciam a distribuição de medicamentos no espaço endodôntico, a identificação das moléculas mais apropriadas para essa finalidade, bem como a padronização de eletrodos bem definidos, que garantam maior segurança e eficácia no procedimento.

3.8 Digluconato de clorexidina

A clorexidina é uma molécula básica e hidrofóbica (GREENSTEIN; BERMAN; JAFFIN, 1986), de pKa 10,8 (DRUGBANK, 2025), porém a preparação oral mais comum, o digluconato de clorexidina (CHX) (MM = 897.8 g/mol) (PUBCHEM, 2026) (Fig. 9), é solúvel em água (0,8 mg/mL) (DRUGBANK, 2026) e dissocia-se em cátions quando em solução aquosa, o que está intimamente relacionado ao seu mecanismo de ação (MOHAMMADI; ABBOTT, 2009).

Essas cargas positivas liberadas interagem com as cargas negativas da parede celular bacteriana, alterando seu equilíbrio osmótico, causando lise do microrganismo (MOHAMMADI; ABBOTT, 2009; Yan et al., 2021). A substantividade do CHX depende do número de moléculas exposto à superfície dentinária (MOHAMMADI; ABBOTT, 2009), portanto em concentrações mais elevadas (2%) possui atividade antibacteriana e, em concentrações mais baixas (0,2%), sua atividade é bacteriostática (RUKSAKIET et al., 2020; MOHAMMADI; ABBOTT, 2009).

As características físico-químicas de solubilidade e liberação de cátions em solução aquosa tornam essa molécula favorável a aplicação da iontoforese.

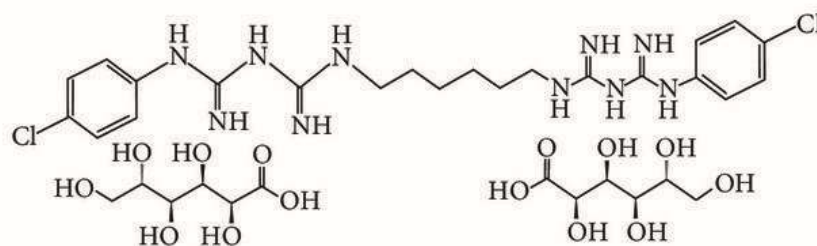


Figura 9. Molécula do digluconato de clorexidina (GARCÍA et al., 2017).

3.9 Brometo de domifeno

O brometo de domifeno (BD) (MM = 414.5 g/mol) (PUBCHEM 2026); (Fig. 10) também é uma molécula favorável a aplicação iontoforética, pois além de ser solúvel em água (1000 mg/mL) (PUBCHEM 2026), é um sal de amônio quaternário, com ação antimicrobiana e antibiofilme de amplo espectro em baixas concentrações (HU et al., 2021; TITS et al., 2020) contra uma ampla gama de bactérias gram-positivas, gram- negativas e fungos (KULL et al., 1971; TITS et al., 2020), por isso, pode ser usado no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas como faringite, candidíase e feridas orais (CHEN et al., 2024).

Os compostos de amônio quaternário apresentam um átomo de nitrogênio central ligado a quatro grupos orgânicos e um íon carregado negativamente. Essa configuração confere uma carga positiva permanente ao átomo de nitrogênio, tornando esses compostos catiônicos por natureza, independente do pH do meio (FEDOROWICZ, J; SAŁCZEWSKI, 2024).

Os sais de amônio quaternário podem ter seus mecanismos de ação baseados em interação com o DNA ou com a proteína FtsZ do microrganismo, inativação de enzimas ou degradação de proteínas celulares (DAN et al., 2022; ANVISA, 2021).

É uma molécula utilizada no exterior em cosméticos, pastas de dentes, enxaguatórios bucais, antiséptico e anti-placa. Além de ser comercializado para uso profilático e tratamento de infecções de boca e garganta em concentração de 0,1% (COUNCIL OF EUROPE PUBLISHING, 2008).

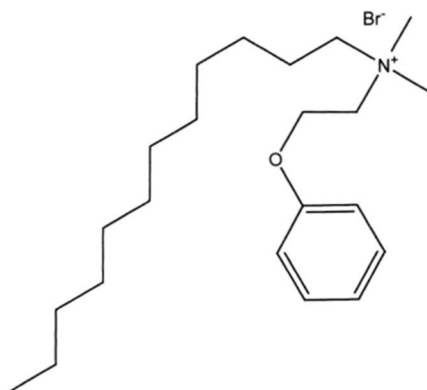


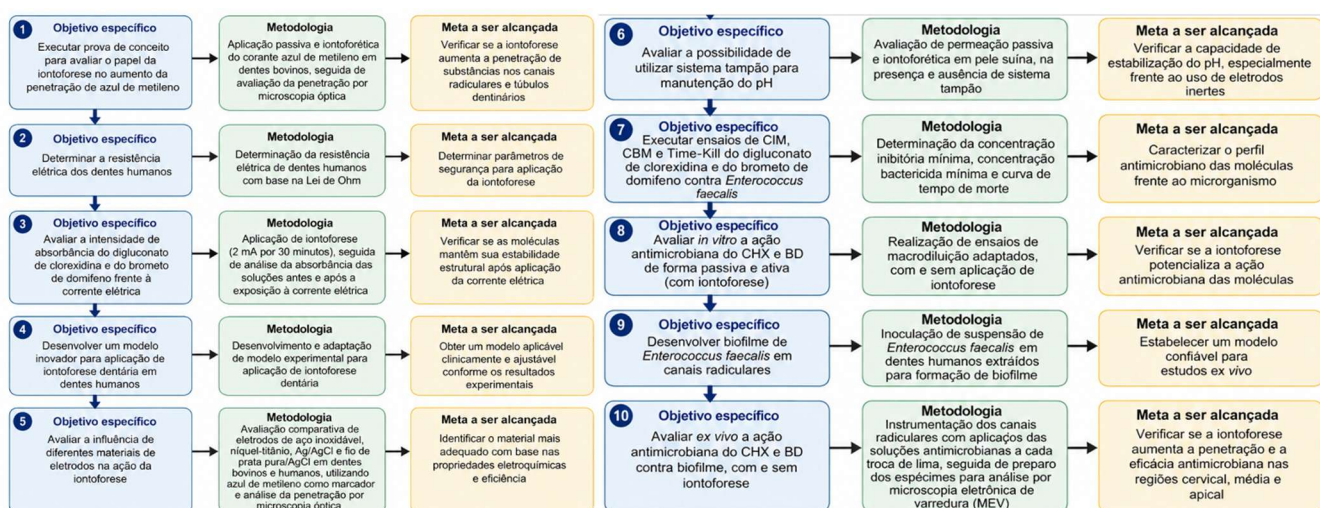
Figura 10. Molécula do Brometo de Domifeno (COUNCIL OF EUROPE PUBLISHING, 2008)

4. Materiais e métodos

4.1 Materiais

Os dentes bovinos foram obtidos no frigorífico Nippobras (Formosa, Brasil). Os dentes humanos foram obtidos no Hospital Universitário de Brasília, gentilmente cedidos por pacientes que precisaram realizar extração dentária sob indicação terapêutica e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília sob o número 76997223.5.0000.0030 para utilização de dentes humanos extraídos sob indicação terapêutica.

4.2 Delineamento do estudo



4.3 Prova de conceito em dentes bovinos

A prova de conceito teve como objetivo avaliar a penetração do corante azul de metileno em canais radiculares e túbulos dentinários de dentes bovinos de forma passiva (sem iontoforese) e de forma ativa (com iontoforese). O azul de metileno (MM = 319.9 g/mol) (PUBCHEM, 2026) é um corante catiônico (JOHNSON et al., 1998), altamente solúvel em água (43,6 mg/mL) (PUBCHEM, 2026), o que o torna uma molécula adequada para aplicações associadas à iontoforese. Nesse contexto, sua condução ocorre principalmente por meio do mecanismo de eletromigração, favorecendo o deslocamento do corante através das estruturas dentinárias sob a influência de um campo elétrico.

4.3.1 Desenvolvimento de protótipo

Um modelo bicompartimental personalizado foi produzido por impressão 3D (KS Motor KS42STH40-1204^a Voolt3D - Santo André, Brasil), com filamento ABS (D3M - Belo Horizonte, Brasil), e dimensões de 8cm de comprimento e 3,5cm de largura e de altura. Os orifícios para acomodar o dente bovino e o eletrodo de retorno foram desenvolvidos com diâmetro de 2cm e 1cm respectivamente.

Um recipiente para acoplar o dente e o eletrodo foi desenvolvido com silicone de condensação em dimensões suficientes para abrigar essas estruturas e manter o dente imerso na solução salina colocada no interior do modelo bicompartimental, permitindo a passagem da corrente elétrica (Fig. 11).

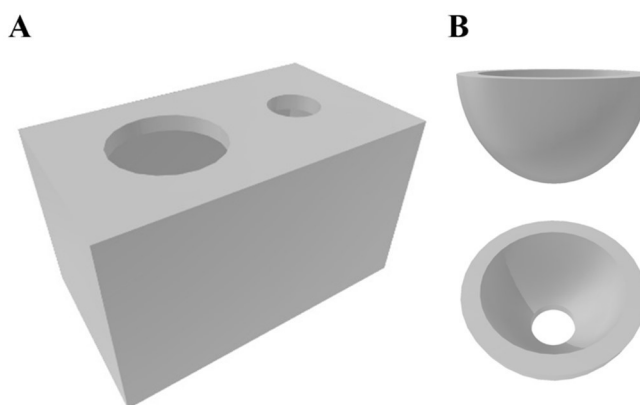


Figura 11. Estruturas desenvolvidas para execução da prova de conceito em dentes bovinos. (A) modelo bicompartimental produzido por impressão 3D para acoplar o dente e o eletrodo de retorno, bem como ser preenchido com solução salina. (B) recipiente desenvolvido com silicone de condensação para abrigar o dente e o eletrodo.

4.3.2 Preparo de eletrodos de prata e cloreto de prata para aplicação de iontoforese

O cloreto de prata (99%), fio de cloreto de prata (99%) e fio de platina (99,9%) foram adquiridos da Sigma- Aldrich (Steinheim, Alemanha).

Eletrodos de prata e cloreto de prata (Ag/AgCl) foram inicialmente utilizados. Tais estruturas foram preparadas com um cadinho de porcelana e uma lamparina, derreteu-se uma quantidade de AgCl suficiente para cobrir a extremidade dobrada de um fio de prata. Após o fio de prata ter sido imerso três vezes, ele foi totalmente coberto por cloreto de prata solidificado, obtendo-se assim os eletrodos negativos (cátodos) (Fig. 12) (SÁ, 2015).

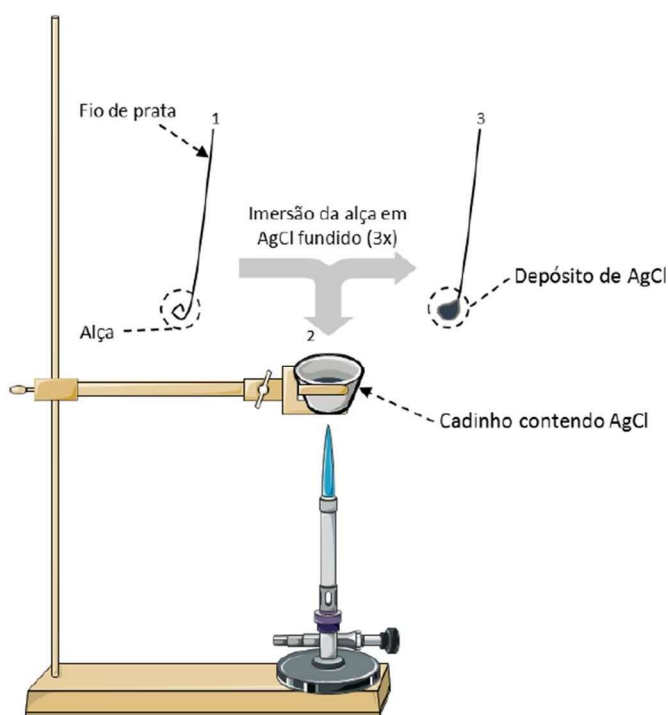


Figura 12. Representação esquemática do preparo do eletrodo de AgCl. 1: fio de prata com alça moldada na ponta; 2: imersão da alça em AgCl fundido; 3: eletrodo de AgCl pronto (SÁ, 2015).

Já os eletrodos positivos (ânodos) foram preparados através de uma reação redox catalisada por corrente elétrica, onde o eletrodo de AgCl foi conectado ao terminal negativo da fonte geradora de corrente, e um fio de platina foi conectado ao terminal positivo da mesma fonte, imerso em solução salina saturada. A corrente aplicada foi de 0,5 mA por 24 horas e fornecida pela fonte de alimentação Futron Data modelo ACC200.2.20 (Campinas, Brasil). Neste momento, o eletrodo de AgCl foi reduzido a prata metálica, formando assim o eletrodo de prata (Fig. 13) (SÁ, 2015).

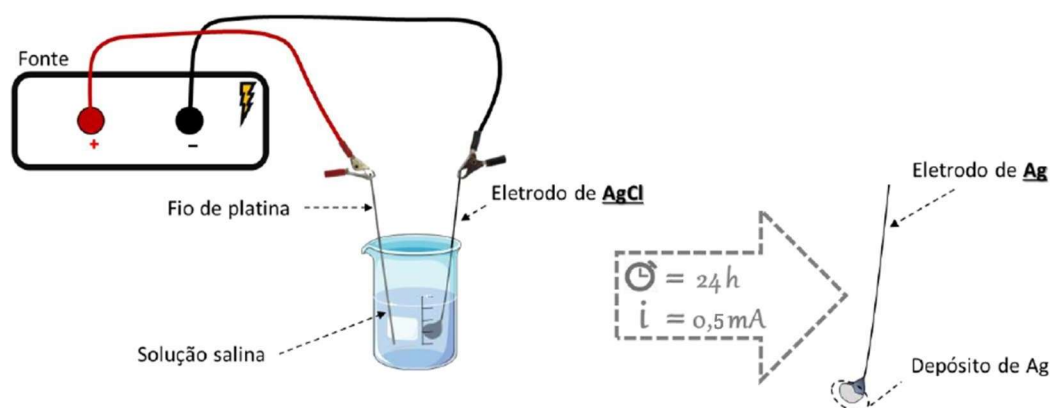


Figura 13. Representação da reação de redução do eletrodo de AgCl para formar o eletrodo de Ag. (Adaptado de SÁ, 2015).

4.3.3 Avaliação do papel da iontoforese dentária

Trinta e três dentes incisivos bovinos saudáveis foram escolhidos para a prova de conceito. As amostras foram descontaminadas com hipoclorito de sódio a 2,5%. As coroas foram removidas e armazenadas em água destilada. Foram selecionados dentes de aproximadamente 2 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro para garantir maior homogeneidade entre os espécimes.

O azul de metileno foi obtido da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Todas as soluções foram preparadas usando água ultrapura fornecida pela Millipore (Ilkirkirch-Graffenstaden, França). O silicone de condensação foi obtido da Yller Biomaterials (Pelotas, Brasil).

Uma solução aquosa de azul de metileno foi preparada a 200 µg/mL, pH 7,0. Além disso, para garantir o número mínimo de íons necessários para carregar a corrente elétrica durante os pontos de tempo de aplicação especificados, cloreto de sódio foi adicionado à solução de azul de metileno (solução doadora), de acordo com a equação 1, onde T é o número de mols necessários para transportar a corrente elétrica, i é a corrente elétrica contínua e constante em amperes, t é o tempo em segundos e F refere-se à constante de Faraday (96.500 C).

$$T = \frac{i (A) \times t (s)}{F (C)} \quad \text{Eq. 1}$$

A solução doadora de azul de metileno foi aplicada em toda a extensão de canais radiculares bovinos, cujos forames apicais foram ocluídos com filme termoplástico para evitar o extravasamento da solução, com uma agulha seringa de 1 mL (Fig. 14), e um volume extra foi aplicado no recipiente para que o eletrodo positivo pudesse permanecer imerso na solução.

A iontoforese foi aplicada a 0,5mA por 5 e 15min e 1,5 mA por 5 e 15 min. Esses os valores foram estabelecidos com base em dados encontrados na literatura (GERGOVA et al.,

2016; KUMAR et al., 2018; IONESCU et al., 2020) e comparados com a aplicação passiva do corante por 5 e 15min. O eletrodo positivo (ânodo) foi imerso na solução doadora sem colocá-lo dentro do canal radicular ou tocar no dente, e o eletrodo de retorno (cátodo) foi posicionado no compartimento com a solução salina (Fig. 14).

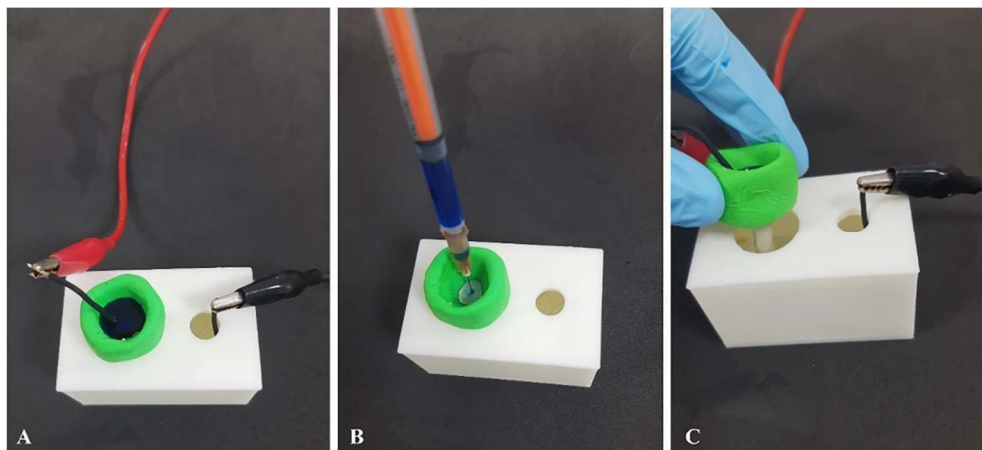


Figura 14. Modelo bicompartimental personalizado produzido por impressão 3D. (A) Modelo bicompartimental permitindo o posicionamento dos eletrodos e do recipiente verde contendo o dente e a solução de azul de metileno. (B) Aplicação de solução de azul de metileno no canal radicular bovino. (C) Azul de metileno aplicação de iontoforese.

Imediatamente após a iontoforese e a aplicação passiva do corante, cada dente foi cortado transversalmente, com disco diamantado (Microdont – São Paulo, Brasil) acoplado a um motor odontológico S1 (OdontoMega, Ribeirão Preto, Brasil), nos terços cervical, médio e apical para análise da penetração do corante em cada região. Os cortes foram padronizados em aproximadamente 3 mm abaixo do início de cada terço do dente para garantir a homogeneidade entre os espécimes. As fatias foram feitas com espessura fina o suficiente para serem posicionadas em uma lâmina histológica e visualizado por microscopia óptica (Fig. 15).

A análise microscópica foi realizada com aumento de 3,2x, permitindo visualização completa da penetração do corante nos túbulos dentinários. A distribuição radial do corante foi medida usando o ImageJ software em escala de 1 mm em 4 regiões diferentes da circunferência do corante.

A análise estatística foi realizada com teste Shapiro-Wilk e múltiplos testes T – um por linha (análises agrupadas) utilizando o Software GraphPad Prism®, versão 7.02 (San Diego, CA, EUA). O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

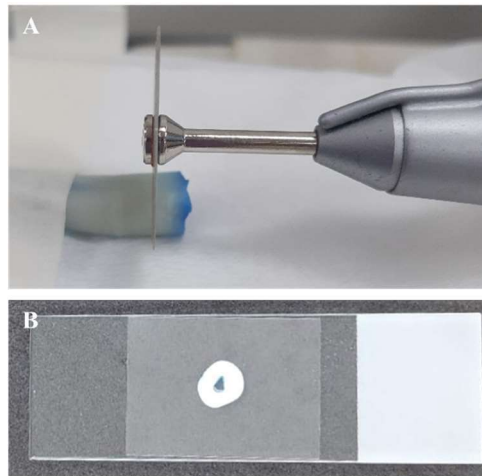


Figura 15. Corte de dentes bovinos. (A) Secções transversais do dente com disco diamantado acoplado a motor odontológico. (B) Fatia dentária em lâmina histológica.

4.4 Determinação da resistência elétrica dos dentes humanos

Os dentes humanos foram descontaminados com hipoclorito de sódio a 2,5%, autoclavados e armazenados em água ultrapura.

Os grupos de dentes foram organizados em incisivos centrais, incisivos laterais, caninos, primeiros e segundos pré-molares, primeiros e segundos molares e terceiros molares mandibulares e maxilares. Sendo que os terceiros molares foram divididos ainda, em dentes acessados e dentes não acessados. Dentes acessados são aqueles submetidos à abertura coronária para permitir o acesso ao sistema de canais radiculares, enquanto dentes não acessados permanecem íntegros, sem qualquer intervenção que exponha ou modifique sua estrutura interna.

Os dentes não acessados foram posicionados no dispositivo desenvolvido para a prova de conceito e a corrente elétrica foi aplicada por 0,5mA e 1,5mA com limas de aço inoxidável, uma em contato com o dente e a outra em contato com a solução salina dentro do dispositivo. Já nos dentes acessados, uma das limas foi introduzida no canal radicular simulando o tratamento convencional, visando a possível redução da resistência elétrica oferecida pelos espécimes ao retirar parte da dentina, tecido que oferece baixa condutividade elétrica (SANDROLINI, 2013) (Fig 16).

A resistência elétrica total do sistema e da água foi calculada a partir a Lei de Ohm (Eq. 2), que mostra a relação entre a tensão, a corrente elétrica e a resistência de um circuito elétrico, onde U é a tensão elétrica (V), i é corrente elétrica (A) e R é resistência do sistema (HALLIDAY; RESNICK, 2010). Após, a resistência elétrica dos dentes foi calculada a partir do cálculo de resistência equivalente considerando resistores em série, como mostra a equação

3. A resistência equivalente (R_{eq}) é utilizada para simplificar circuitos elétricos formados por associação de resistores (HALLIDAY; RESNICK, 2010).

A análise estatística foi realizada com teste Shapiro-Wilk, múltiplos testes T – um por linha (análises agrupadas), e e one-way ANOVA – comparando a média de cada coluna com a média de todas as outras colunas (análises agrupadas), utilizando o Software GraphPad Prism®, versão 7.02 (San Diego, CA, EUA). O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

$$U = i \times R \quad \text{Eq. 2}$$

$$R_{eq} = R1 + R2 + \dots Rn \quad \text{Eq. 3}$$

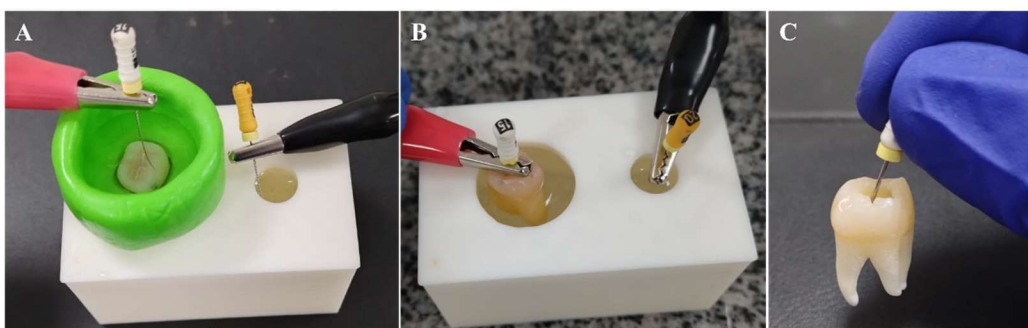


Figura 16. Determinação da resistência elétrica dos dentes. (A) Utilização do modelo bicompartimental personalizado em dente não acessado. (B) Utilização da lima no interior do canal radicular em dente acessado. (C) Introdução da lima no canal radicular

4.5 Avaliação da intensidade de absorbância do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno frente a corrente elétrica

Soluções-mãe hidroalcóolicas em proporção 1:1 de digluconato de clorexidina (CHX) e de brometo de domifeno (BD) foram preparadas a 100µg/mL.

As concentrações de CHX e BD (Tabela 1) foram estabelecidas de acordo com a presença de grupos cromóforos nas moléculas e, portanto, na capacidade do equipamento em detectá-las (PAVIA et al., 2010).

CHX (µg/mL)	BD (µg/mL)
0,5	100
2,5	110
5,0	120
10,0	130
15,0	140
20,0	150
25,0	160

Tabela 1. Concentrações de CHX e BD ($\mu\text{g/mL}$) para varredura em espectrofotômetro UV-Vis.

Foi realizada varredura em espectrofotômetro UV-Vis antes e após aplicação de iontoforese a 2mA por 30min.

4.6 Desenvolvimento do modelo IontoBite para aplicação de iontoforese dentária

Considerando os resultados favoráveis ao uso da iontoforese, bem como os que afirmam sua segurança, um modelo inovador preliminar para aplicação da iontoforese dentária *in vivo* foi desenvolvido de acordo com a figura 17.

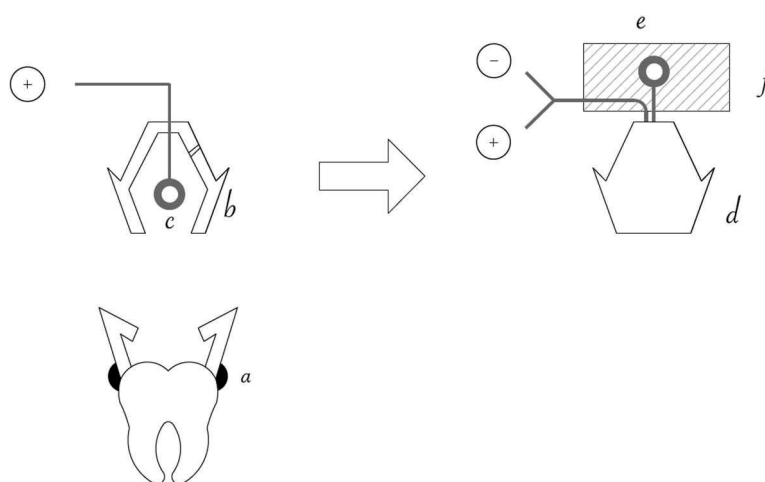


Figura 17. Representação esquemática do modelo IontoBite. a. reservatório do fármaco; b. visão interna da peça complementar; c. eletrodo positivo; d. visão externa da peça complementar; e. eletrodo negativo e f. patch adesivo.

4.7 Avaliação da influência de diferentes materiais de eletrodos na ação da iontoforese

A análise foi realizada em dentes bovinos e dentes humanos. As limas de níquel-titânio (Pathfile) e aço inoxidável (K-flexofile A 012C #15) foram obtidas da Dentsply Maillefer (Ballaigues, Suíça) e o gancho utilizado foi do localizador apical Finepex da Schuster (Santa Maria, Brasil).

4.7.1 Dentes bovinos

Visando a possível aplicabilidade clínica, instrumentos já utilizados na endodontia também foram usados como eletrodos (Fig. 18), como limas de aço inoxidável e níquel- titânio, que são materiais já bem conhecidos pelos profissionais endodontistas. Como eletrodo de retorno foi utilizado um eletrodo de aço inoxidável em forma de gancho pertencente ao localizador apical, equipamento também já usado pelos profissionais endodontistas. Além

disso, o potencial de iontoforese também foi avaliado utilizando um fio de prata pura como eletrodo positivo e AgCl como eletrodo de retorno.

Com base nos resultados dos testes realizados com os eletrodos de Ag/AgCl, a iontoforese foi aplicada a 0,5mA por 15min e 1,5mA por 5min e as demais etapas do experimento foram realizadas da mesma forma que com os eletrodos de Ag/AgCl (Fig. 17). Por se tratar de eletrodos inertes, o pH das soluções de azul de metileno foi medido antes e após as aplicações iontoforéticas com as limas de aço inoxidável e níquel-titânio.



Figura 18. Aplicação da iontoforese com o modelo bicompartimental personalizado, utilizando (A) lima de aço inoxidável, (B) lima de níquel-titânio com gancho localizador apical como eletrodo de retorno e (C) fio de prata pura com AgCl como eletrodo de retorno.

4.7.2 Dentes humanos

A metodologia utilizada com dentes humanos foi a mesma empregada com dentes bovinos no item 4.6.1. No entanto, considerando a competição iônica pelo transporte de carga associada aos eletrodos de aço inoxidável e níquel-titânio, bem como o desempenho comparável do fio de prata pura aos eletrodos de Ag/AgCl observado em espécimes bovinos, a iontoforese em dentes humanos foi realizada utilizando um fio de prata pura como eletrodo ativo e um eletrodo de AgCl como eletrodo de retorno (Fig. 19).

A corrente elétrica foi aplicada a 1 mA durante 1 minuto e comparada à aplicação passiva pelo mesmo período. Considerações clínicas justificam o menor tempo de aplicação e a maior intensidade de corrente. Em um contexto endodôntico prático, reduzir a duração de uma determinada técnica aumenta o conforto do paciente e a eficiência do procedimento para o endodontista.

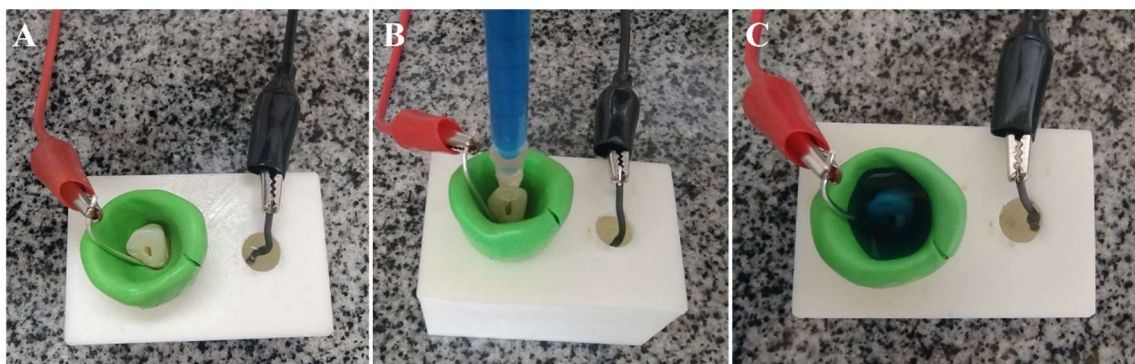


Figura 19. Aplicação de iontoforese utilizando fio de prata pura e AgCl como eletrodo de retorno. (A) Posição do dente humano com os eletrodos. (B) Aplicação de azul de metileno. (C) Posição do dente humano com a solução e os eletrodos.

4.7.3 *Análise estatística*

A análise estatística foi realizada com teste Shapiro-Wilk e múltiplos testes T – um por linha (análises agrupadas) utilizando o Software GraphPad Prism®, versão 7.02 (San Diego, CA, EUA). O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

4.8 Avaliação da possibilidade de utilizar sistema tampão para manutenção do pH

Esta etapa foi conduzida na Universidade de Genebra - Suíça, durante o doutorado sanduíche no exterior (PDSE), utilizando pele suína como membrana biológica para aplicação da iontoforese. A opção por esse material justificou-se pelo fato de que o comitê de ética da instituição não emite pareceres em prazos reduzidos, de modo que o intervalo de seis meses não seria suficiente para viabilizar a aprovação ética necessária ao uso de dentes humanos. Além disso, o laboratório já possuía experiência consolidada no uso de iontoforese em pele suína, o que reforçou a escolha desse modelo experimental para a execução dos ensaios.

O objetivo desses testes foi empregar um sistema tampão, uma vez que o potencial de redução do pH associado aos eletrodos inertes (aço inoxidável e níquel titânio) poderia comprometer as condições de permeação. Assim, buscou-se verificar se o uso do tampão seria capaz de minimizar a variação de pH e, conseqüentemente, melhorar o desempenho das permeações na pele suína. Para a execução desses ensaios, fez-se necessária a validação de um método bioanalítico em LC-MS/MS utilizando lidocaína (LD), fármaco amplamente utilizado para estudos de permeação iontoforética devido às suas propriedades iônicas (KALIA et al., 2004).

4.8.1 Validação do método bioanalítico

A validação do método foi conduzida de acordo com a Diretriz da Agência Europeia de Medicamentos para validação de métodos bioanalíticos (European Medicines Agency Guideline on Bioanalytical Method Validation, 2015), contemplando parâmetros como linearidade, efeito de matriz, limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), bem como precisão e exatidão.

4.8.1.1 Linearidade

A linearidade é o parâmetro que avalia a relação proporcional entre os resultados analíticos obtidos e a concentração do analito presente nas amostras, sendo, neste estudo, a Lidocaína.

Dessa forma, foram realizadas curvas analíticas de LD em metanol, em triplicata, nas concentrações de 5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL, 30 ng/mL, 40 ng/mL, 50 ng/mL e 60 ng/mL. As áreas dos picos de cada amostra dentro das curvas foram correlacionadas às concentrações utilizando regressão linear.

4.8.1.2 Efeito matriz

O efeito matriz foi avaliado por meio da preparação de amostras de lidocaína (LD) em triplicata, nas concentrações de 10, 30 e 60 ng/mL, tanto em metanol quanto na matriz de pele íntegra (full thickness).

O fator de matriz (FM) foi determinado pela razão entre a área do pico obtida na presença da matriz e a área do pico obtida na ausência da matriz (em solvente).

Valores de FM entre 85% e 115% indicam ausência de efeito de matriz significativo, demonstrando que a matriz não interfere de forma relevante na resposta analítica do método.

4.8.1.3 Limites de detecção e quantificação

O limite de detecção (LOD) corresponde à menor concentração do analito que pode ser detectada pelo método analítico e pode ser calculado de acordo com a equação 4, em que σ corresponde ao desvio padrão do intercepto com o eixo y a partir de três curvas de calibração contendo concentrações de LD próximas ao suposto limite de detecção e IC representa a inclinação da curva de calibração (coeficiente angular).

$$LD = 3,3 \times \frac{\sigma}{IC} \quad \text{Eq. 4}$$

O limite de quantificação (LOQ) corresponde à menor concentração de analito que pode ser quantificada de forma confiável pelo método analítico e pode ser calculado pela equação 5, em que, do mesmo modo para LD, σ corresponde ao desvio padrão do intercepto com o eixo y a partir de três curvas de calibração contendo concentrações de LD próximas ao suposto limite de detecção e IC representa a inclinação da curva de calibração (coeficiente angular).

$$LQ = 10 \times \frac{\sigma}{IC} \quad \text{Eq. 5}$$

4.8.1.4 Precisão e exatidão

A precisão foi avaliada pela mesma analista ao longo de três dias consecutivos. Para essa avaliação, foram preparadas amostras em triplicata para cada concentração (10, 30 e 60 ng/mL) em cada dia de análise. A precisão foi então determinada de acordo com a equação 6, em que CV é o coeficiente de variação, σ representa o desvio padrão entre os resultados de um dado ponto e m é a média dos valores obtidos em tais replicatas. Para ser considerado preciso, o CV deve ser inferior a 5%.

$$CV = \left(\frac{\sigma}{m} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 6}$$

A exatidão refere-se à capacidade do método analítico de fornecer resultados próximos aos valores teóricos, ou seja, à concentração nominal do analito. A exatidão foi determinada de acordo com a equação 7.

$$E \% = \frac{\text{Valor mensurado}}{\text{Valor teórico}} \times 100 \quad \text{Eq. 7}$$

4.8.1.5 Recuperação

O ensaio de recuperação foi conduzido com o objetivo de avaliar a eficiência do processo extrativo na remoção de LD presente nas camadas da pele. Para tal, empregou-se como solução extratora uma mistura de metanol e água na proporção 50:50. As amostras foram inicialmente submetidas a 20 minutos de banho de ultrassom, seguidos por 24 horas de agitação magnética contínua.

A recuperação do fármaco foi determinada com base na comparação entre a concentração de LD extraída e a concentração teórica de LD, sendo calculada de acordo com a Equação 7. O ensaio foi realizado em triplicata para cada nível de concentração avaliado (10, 30 e 60 ng/mL).

4.8.2 Definição da concentração do tampão

O tampão HEPES (Sigma-Aldrich - Steinheim, Alemanha) foi selecionado devido às suas características zwitteriônicas. Isso significa que, embora a molécula seja eletricamente neutra, ela possui cargas opostas em diferentes átomos (XU et al., 2016; HÄRING et al., 2015), dessa forma não há competição entre as cargas do HEPES e a carga positiva da LD (KALIA et al., 2004).

O pH da água e da solução HEPES em diferentes concentrações foi medido antes e após a aplicação da iontoforese. Para isso, 1,5 mL (volume suficiente para inserir os eletrodos) de cada solução foi colocado no compartimento doador de células de difusão de Franz de 0,8 cm². No compartimento receptor, foram utilizados 5 mL de tampão PBS.

Os eletrodos de aço inoxidável e níquel-titânio foram imersos na solução doadora e a iontoforese foi aplicada a 0,5 mA/cm² por 15 min.

4.8.3 Estudos de permeação

Soluções de LD a 0,1% foram preparadas em tampão HEPES 150 mM com pH ajustado para 7, pH no qual a LD, que possui pKa 7,9 (PUBCHEM, 2024), é ionizada ($\alpha > 80\%$). Cada solução, em um volume de 1,5 mL, foi adicionada ao compartimento doador da célula de difusão de Franz (0,8 cm²), com 5 mL de tampão PBS no compartimento receptor.

A iontoforese foi aplicada a 0,5 mA/cm² por 15 min e comparada à aplicação passiva por 15 min.

A análise estatística foi realizada com teste Shapiro-Wilk e múltiplos testes T – um por linha (análises agrupadas) utilizando o Software GraphPad Prism®, versão 7.02 (San Diego, CA, EUA). O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

4.9 Ensaios de concentração inibitória mínima, concentração bactericida mínima e curva Time-Kill do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno contra *Enterococcus faecalis*;

4.9.1 Concentração inibitória mínima (MIC) e Concentração bactericida mínima (CBM)

A cepa bacteriana de *Enterococcus faecalis* liofilizada (American Type Culture Collection ATCC® 19433, lote 93-05sv) foi inoculada em caldo Müeller Hinton (MH) (Merck - Darmstadt, Alemanha) estéril e incubada em estufa a 37°C durante 24 horas.

As suspensões experimentais foram preparadas de forma a atingir a concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, ajustada ao padrão de turbidez 0,5 da escala de MacFarland (CLSI, 2018) utilizando-se de leitura da densidade óptica a 620nm em espectrofotômetro Uv-Vis (MIRA;

YEH; HALL, 2022) (UV-1800, Shimadzu - Quioto, Japão). Colocando a cultura nos poços, a suspensão atinge concentração final de cerca 5×10^5 UFC/mL (CLSI, 2018).

As amostras CHX e BD (Sigma-Aldrich - Steinheim, Alemanha) foram diluídas de forma seriada em placa de 96 poços (Kasvi - São José dos Pinhais, Brasil). Cada poço recebeu 100 μ L da amostra diluída e 100 μ L do inóculo microbiano, resultando em uma concentração final de inóculo de $1,0 \times 10^5$ UFC/mL em um volume total de 200 μ L por poço. Para o controle positivo do crescimento microbiano, cada poço recebeu 100 μ L de caldo MH e 100 μ L de inóculo microbiano. Para o controle sem crescimento microbiano, foram utilizados 200 μ L de caldo MH.

As placas contendo cada fármaco foram incubadas em estufa a 37 °C por 24 h. Após essa etapa, foram adicionados 20 μ L de resazurina (Contemporânea Chemical Dinâmica - Indaiatuba, Brasil) aos poços. A resazurina é um indicador redox usado para avaliar a viabilidade celular. A resazurina é azul, mas torna-se rosa (resofurina) quando metabolizada por microrganismos viáveis (RISTIVOJEVIĆ et al., 2018; BUENO et al., 2002). O MIC foi definido como a menor concentração na qual não houve alteração na cor.

Após a determinação do MIC, foram coletados 100 μ L de cada concentração acima do MIC estabelecido e semeados em placas de meio MH ágar e incubadas por 24h para posterior contagem de colônias. A CBM foi determinada como a menor concentração que não permitiu o crescimento microbiano visível no ágar.

Para estabelecer uma comparação entre a atividade dos fármacos avaliados e as soluções já consolidadas no mercado, todos os ensaios microbiológicos foram realizados também para o hipoclorito de sódio (NaOCl). Este agente, amplamente reconhecido como o padrão-ouro na desinfecção endodôntica, é a solução irrigadora mais empregada na prática clínica (RUKSAKIET et al., 2020).

4.9.2 Ensaio de curva de tempo morte (Time-kill curve)

Os ensaios de inibição do crescimento microbiano ao longo do tempo (curva de tempo morte) da CHX e do BD foram realizados em concentrações de $4 \times \text{MIC}$, $2 \times \text{MIC}$, MIC, $0,5 \times \text{MIC}$ e $0,25 \times \text{MIC}$. Os experimentos foram conduzidos em microplacas de 96 poços. Em cada poço, foram adicionados 100 μ L da amostra previamente diluída e 100 μ L do inóculo, de modo a obter uma concentração final de $1,0 \times 10^5$ UFC/mL e um volume total de 200 μ L por poço. Para o controle positivo de crescimento, cada poço recebeu 100 μ L de caldo e 100 μ L do inóculo bacteriano. Para o controle sem crescimento microbiano, foram utilizados 200 μ L de meio MH.

As amostras foram coletadas em 0, 30, 60, 90, 120 min e 24 h e semeadas em placas de meio MH ágar, que foram incubadas a 37°C por 24 h. Os resultados foram elaborados através do número de unidades formadoras de colônias resultantes em Log₁₀ (Log₁₀ UFC/mL) em função do tempo (LEBER, 2016).

4.10 Avaliação *in vitro* da ação do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno contra *Enterococcus faecalis* de forma passiva (sem iontoforese) e ativa (com iontoforese)

A realização desse ensaio é uma metodologia adaptada de (ABIHPEC; ABDI; SEBRAE, 2015) que tem o objetivo de avaliar o comportamento do microrganismo quando em contato com o antimicrobiano no decorrer do tempo.

O experimento foi realizado em eppendorfs contendo 2 mL de cada fármaco em concentração de MIC diluídos em NaCl 0,9% e 20 µL do inóculo, atingindo uma concentração de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL de acordo com o método de macrodiluição (CLSI, 2018). Amostras de 10 µL foram coletadas em 0, 15, 30, 45 e 60 min, diluídas a 1:100 e centrifugadas a 10 mil rpm por 3 min. Após a centrifugação, o sobrenadante, composto pelo meio de cultura e pelo fármaco, foi substituído por novo NaCl 0,9%, a fim de eliminar completamente qualquer resíduo do composto. Esse procedimento teve como objetivo assegurar que a ação do fármaco se limitasse exclusivamente ao intervalo de exposição previamente estabelecido (por exemplo, 15 min), evitando que sua atividade continuasse durante as 24 horas subsequentes de incubação das placas. Dessa forma, a avaliação reflete apenas o efeito associado ao tempo de tratamento estipulado, e não uma ação prolongada decorrente da permanência do fármaco na solução.

Após a troca do sobrenadante, as amostras foram homogeneizadas em vortex e, em seguida, alíquotas de 100 µL de cada amostra foram semeadas em ágar MH e incubadas a 37°C por 24 h para posterior contagem de colônias e cálculo da redução decimal (RD) e da porcentagem de redução da população microbiana (PR) (Equações 8 e 9, respectivamente), sendo que N_0 é a contagem inicial do inóculo e N_1 a contagem obtida para cada tempo de contato com a amostra.

Para aplicação da iontoforese (1mA), foram utilizados eletrodos de prata (fio de prata) e cloreto de prata (Figura 20).

$$RD = \frac{\log N_0}{\log N_1} \quad \text{Eq. 8}$$

$$PR = (1 - 1/10^{RD}) \times 100 \quad \text{Eq. 9}$$

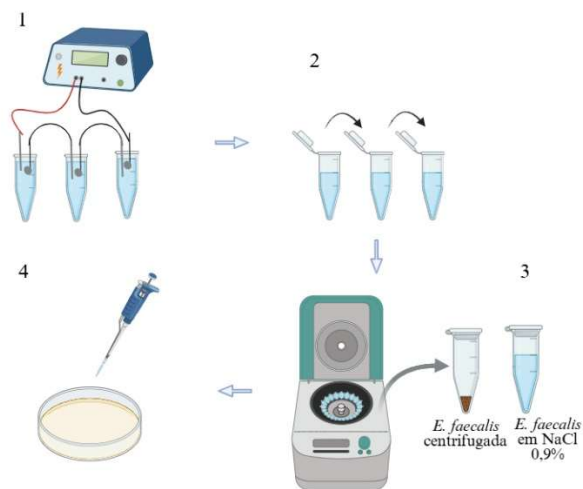


Figura 20. Esquema representando a aplicação da iontoforese a 1mA nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 min (1), bem como a diluição (2) e a centrifugação (3) realizadas para plaqueamento das amostras em MH ágar (4).

4.11 Desenvolvimento de biofilme de *Enterococcus faecalis* nos canais radiculares de dentes humanos extraídos

Vinte e um dentes humanos foram submetidos a trepanação e acesso da câmara pulpar com ponta esférica diamantada 1012, acoplada a caneta de alta rotação e forma de contorno e remoção de teto da câmara pulpar com broca de ponta inativa carbide do tipo Endo-Z. Os condutos foram localizados com sonda exploradora nº5 e lima endodôntica tipo K nº 8.

Em seguida, após a obtenção do glidepath, os canais radiculares foram instrumentados em toda sua extensão com limas tipo K nº15 e nº20. Na sequência, os canais foram ampliados com limas tipo Prodesign S nº25/01, nº30/10 e nº25/8 acionadas por motor X-Smatplus – Dentsply Sirona. Em toda troca de lima, os canais foram abundantemente irrigados com 2 mL de hipoclorido de sódio 2,5%, com seringa descartável tipo luer e agulha *NaviTip*.

Após o processo de instrumentação, os dentes foram imersos em solução de EDTA 17% e levados ao banho de ultrassom por 3 ciclos de 10 min, de forma a garantir a eliminação da lama dentinária decorrente da instrumentação.

Os dentes foram, então, secos em estufa para terem suas raízes revestidas de cola Araldite (Tekbond – Embu das Artes, Brasil), para evitar contaminação externa pelas raízes. Em seguida, foram autoclavados e fixados em placas de 6 poços com auxílio de solução aquosa de agarose a 5%. Dessa forma, os canais radiculares dos espécimes foram, então, preenchidos com suspensão de *Enterococcus faecalis* em caldo Brain Heart Infusion (BHI) (Merck - Darmstadt, Alemanha) ajustada ao padrão de turbidez 3 da escala de MacFarland.

A formação do biofilme ocorreu ao longo de 30 dias em estufa a 37°C, com reposição de caldo BHI a cada 48 horas, de modo a garantir a manutenção adequada da nutrição dos microrganismos.

Após o tempo percorrido, os dentes foram quebrados longitudinalmente com martelo e talhadeira estéril de forma a expor os canais radiculares e preparados para análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

4.12 Avaliação *ex vivo* da ação do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno contra biofilme de *Enterococcus faecalis* de forma passiva (sem iontoforese) e ativa (com iontoforese)

Os 21 dentes foram preparados de acordo com protocolo descrito no item 4.11. Após a seleção e preparo inicial, os dentes foram distribuídos de forma aleatória entre os grupos experimentais e controle. A iontoforese foi aplicada a 1mA por 1 min com eletrodo de Ag pura e AgCl como eletrodo de retorno e pontes salinas para condução da corrente elétrica entre os dentes. Os grupos foram separados da seguinte forma:

Grupo 1: Controle de crescimento e formação de biofilme.

Grupo 2: Tratamento convencional, baseado em instrumentação com limas tipo K nº 15 a 40 e irrigação com NaOCl 2,5% em cada troca de lima.

Grupo 3: Instrumentação com limas tipo K nº 15 a 40 e aplicação de iontoforese (sem fármaco) a 1mA por 1min.

Grupo 4: Instrumentação com limas tipo K nº 15 a 40 e irrigação com CHX 2% a cada troca de lima.

Grupo 5: Instrumentação com limas tipo K nº 15 a 40, irrigação com CHX 2% a cada troca de lima e aplicação de iontoforese a 1mA por 1min.

Grupo 6: Instrumentação com limas tipo K nº 15 a 40 e irrigação com BD 0,1% a cada troca de lima.

Grupo 7: Instrumentação com limas tipo K nº 15 a 40, irrigação com BD 0,1% a cada troca de lima e aplicação de iontoforese a 1mA por 1min.

Para os grupos experimentais 3 e 4, a concentração da solução aquosa de CHX a 2% justifica-se por ser a concentração mais utilizada na prática clínica (ARIAS-MOLIZ et al., 2015; SANTANA et al., 2020). O pH da solução foi ajustado para 7, pois devido a seu pKa de 10,8, a molécula apresenta-se com grau de ionização acima de 90%, resultando na predominância de sua forma catiônica ativa. Essa condição assegura máxima disponibilidade das cargas positivas na molécula, favorecendo o processo de eletromigração durante a aplicação da iontoforese.

Da mesma forma, a solução aquosa de BD a 0,1% (COUNCIL OF EUROPE PUBLISHING, 2008), também foi ajustada para pH 7. Por ser um composto de amônio quaternário, essa substância apresenta carga positiva constante, independentemente das variações fisiológicas de pH (FEDOROWICZ, J; SAŁCZEWSKI, 2024). A escolha do pH neutro teve como finalidade evitar qualquer risco de desmineralização dentária, mantendo a integridade estrutural dos espécimes ao longo de toda a fase experimental (SURESH et al., 2022; O'HAGAN-WONG et al., 2022; MISHRA et al., 2006). Assim, garantiu-se que os efeitos observados fossem atribuídos exclusivamente à ação da solução e não a modificações químicas indesejadas no substrato dentário.

Após a aplicação dos tratamentos, os dentes foram quebrados longitudinalmente com martelo e talhadeira estéril de forma a expor os canais radiculares e preparados para análise qualitativa por MEV.

5. Resultados e discussão

5.1 Prova de conceito em dentes bovinos

A coloração dos túbulos dentinários comparada à ausência de coloração é mostrada na Figura 21, comprovando que a substância penetra através dos túbulos dentinários e, portanto, representa um bom modelo para estudar a influência da iontoforese.

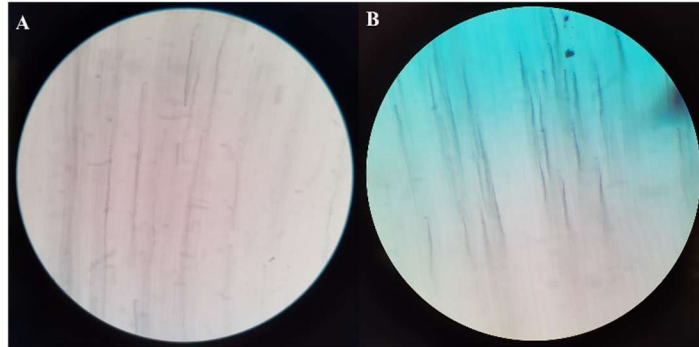


Figura 21. Corte transversal de incisivos bovinos mostrando os túbulos dentinários (aumento de 1000x). (A) Túbulos dentinários sem corante azul de metileno. (B) Túbulos dentinários corados passivamente com azul de metileno por 5 min.

A Figura 22 mostra a penetração do corante azul de metileno nos terços cervical, médio e apical dos dentes por 5 e 15 min das aplicações passiva e iontoforética a 0,5mA e 1,5mA utilizando os eletrodos de Ag/AgCl. As medidas da distância percorrida pela matriz desde a borda polpa-dentina em direção à junção dentina-esmalte mostram uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as aplicações passiva e iontoforética a 0,5 mA e 1,5 mA, ambas em 5 e 15 min (Fig. 23).

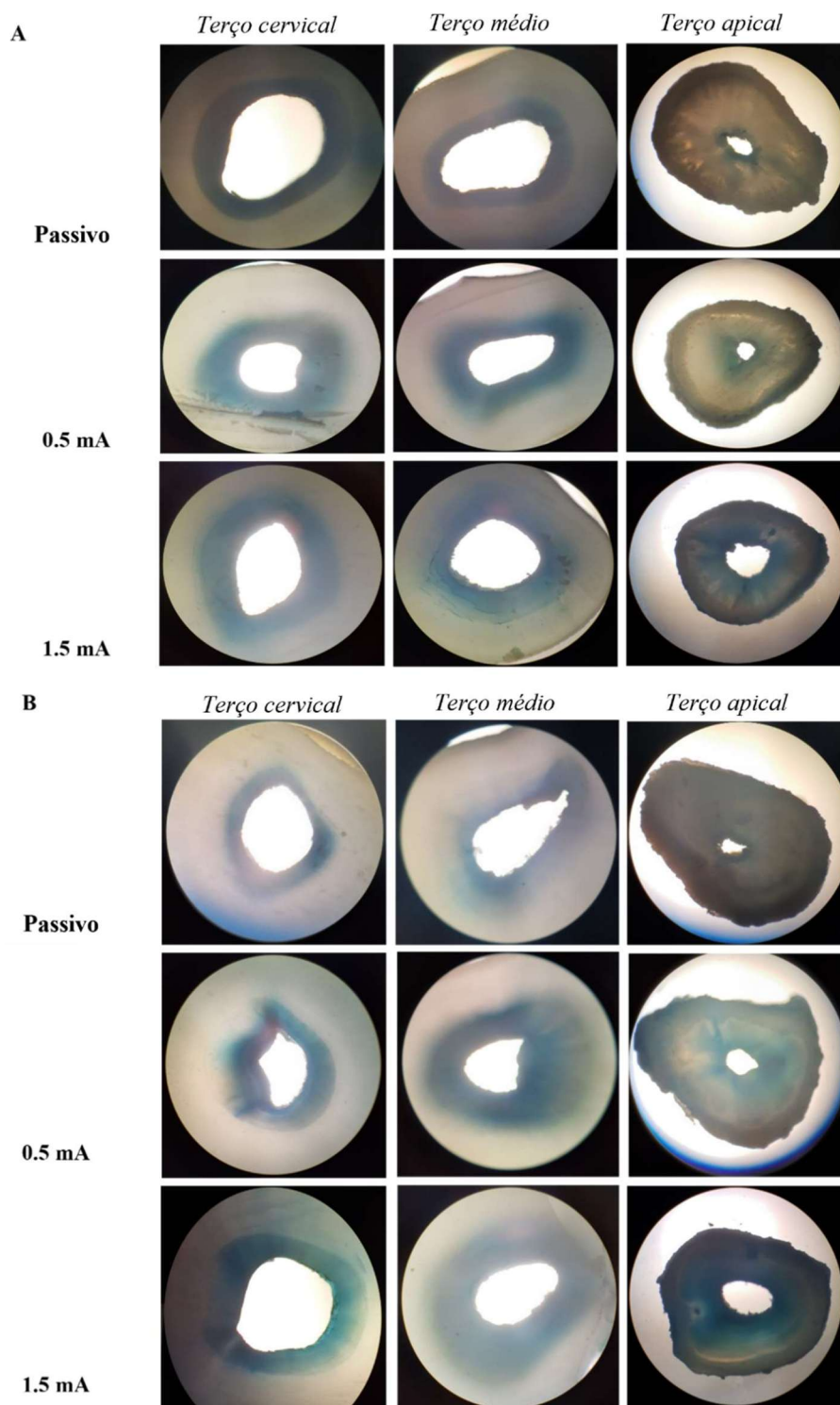


Figura 22. Aplicação de azul de metileno por (A) 5 min e (B) 15 min para liberação passiva ou iontoforética aplicando duas intensidades de corrente (0,5 mA e 1,5 mA) utilizando eletrodos de Ag/AgCl.

Em relação às densidades de corrente e tempos de aplicação, a corrente de 1,5mA por 5min apresentou maior influência na penetração do corante em relação a 0,5mA por 5min nas regiões média ($p = 0,0011$) e apical ($p = 0,000025$). Aos 15 min, houve maior penetração do corante, mas sem diferença significativa entre 0,5 mA e 1,5 mA nas regiões cervical ($p = 0,0937$), média

($p = 0,8947$) e apical ($p = 0,06599$).

Não houve diferença entre a aplicação passiva do corante por 5 e 15 min nas regiões cervical ($p = 0,056$) e média ($p = 0,038$) do dente.

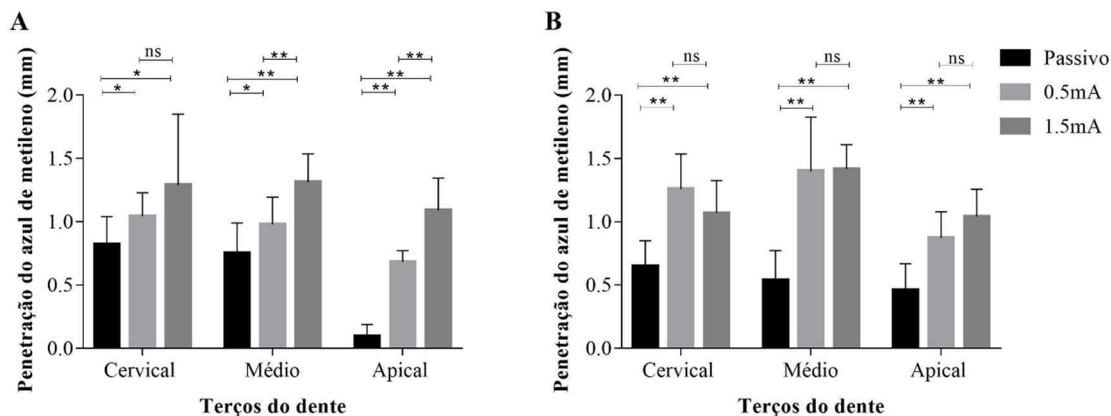


Figura 23. Penetração passiva e iontoforética do azul de metileno em todos os terços dos dentes incisivos bovinos com eletrodos de Ag/AgCl. (A) Penetração do azul de metileno nas regiões cervical, média e apical por 5 min. (B) Penetração do azul de metileno nos terços cervical, médio e apical por 15 min. A análise estatística foi realizada por múltiplos testes t – um por linha (análises agrupadas) * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *ns* é não significativo.

Na Figura 22 é possível observar que a distribuição do corante nos túbulos dentinários não é idêntica em toda a circunferência analisada, possivelmente porque essas estruturas são irregulares na dentina. Isto também pode explicar o fato de que não houve diferença significativa apenas na região cervical entre 0,5 e 1,5mA por 5 minutos, enquanto nas regiões média e apical houve diferença (Fig. 23). Os túbulos dentinários começam na borda polpa-dentina e cruzam em linha reta perto da raiz do dente e em forma de S em da região coronal em direção à junção dentina- esmalte. Os diâmetros dos túbulos variam de 2,5 μm perto da parede pulpar a 0,8 μm em cerca de 3,3mm dele. Conseqüentemente, sua densidade diminui de cerca de 45.000mm² túbulos a 19.000 mm² túbulos da coroa à raiz (AROLA et al., 2017; GARBEROGLIO; BRANNSTROM, 1976; JUD et al., 2016).

A iontoforese pode funcionar através da eletromose ou eletromigração e as contribuições de cada mecanismo de transporte dependem das condições experimentais e das propriedades físico-químicas da molécula. Naturalmente, as moléculas ionizadas teriam seu transporte favorecido pela eletromigração. O azul de metileno, entretanto, é uma base fraca com pK_a 3,14 (PUBCHEM, 2023). Portanto, pHs ácidos favoreceriam sua migração. Entretanto, faixas de pH mais baixas podem favorecer o processo de desmineralização dos dentes (SURESH et al., 2022; O'HAGAN-WONG et al., 2022). Por isso, a solução de azul de metileno utilizada neste estudo permaneceu com pH de 7, considerando que nenhum processo de desmineralização foi

observado em pH 7 e 10 (MISHRA et al., 2006). Isso prova que a penetração do corante não foi uma consequência da desmineralização dos dentes.

Quanto à melhor penetração do corante em 15 min, mas à ausência de uma diferença significativa entre 0,5 e 1,5 mA, pode ser devido ao fato de que uma corrente mais baixa (0,5 mA) proporcionou uma maior distribuição de azul de metileno, mostrando que um tempo maior de aplicação pode compensar uma corrente mais baixa. A densidade de corrente aumenta a distribuição do corante quando o tempo de aplicação é menor (5 min). Este é um fenômeno comum observado com aplicação de iontoforese, onde o aumento da concentração do fármaco, da densidade de corrente e do tempo de aplicação podem resultar linearmente em uma maior penetração até atingir um platô, após o qual pode haver uma saturação do fármaco no tecido (GRATIERI; KALARIA; KALIA, 2011).

Outro fator importante a ser analisado é que as aplicações iontoforéticas a 0,5mA por 15min e 1,5mA por 5min apresentaram o mesmo potencial de penetração do azul de metileno nos túbulos dentinários nas regiões cervical ($p = 0,8518$), média ($p = 0,5525$) e apical ($p = 0,2873$) (Fig. 24), o que torna viável a escolha dos parâmetros que ofereçam mais conforto ao paciente no caso de uma possível aplicação clínica. Levando em consideração que a corrente contínua demonstrou ser segura até 1mA, não causando lesões à polpa e não excedendo o limite sensorial dos pacientes (GUPTA; PANDIT; SRIVASTAVA, 2010), os parâmetros ideais de aplicação seriam de 0,5mA por 15min.

Embora dentes em tratamento endodôntico não possuam polpa, um tecido conjuntivo frouxo, vascularizado e innervado, assim como o ligamento periodontal, e a gengiva seja formada por tecido conjuntivo denso (NANCI, 2018), esses tecidos podem sofrer danos semelhantes quando expostos a uma corrente elétrica mais elevada.

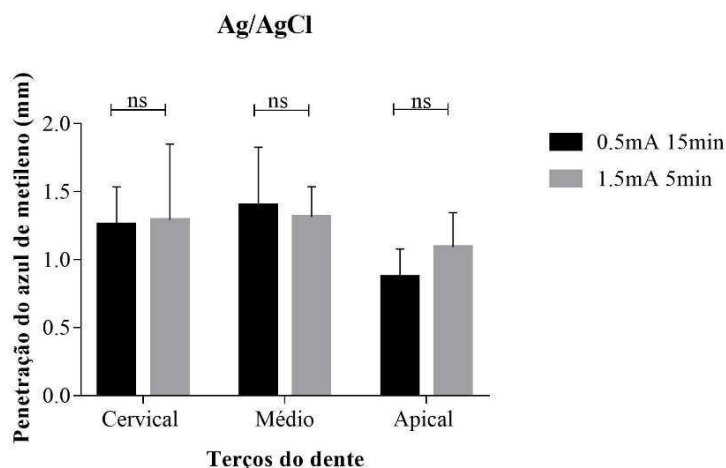


Figura 24. Comparação entre as aplicações iotoforéticas a 0,5mA por 15min e 1,5mA por 5min utilizando

eletrodos de Ag/AgCl. A análise estatística foi realizada por múltiplos testes t – um por linha (análises agrupadas), *ns* é não significativo.

Devido à dificuldade existente na desinfecção endodôntica e à ausência de um protocolo de desinfecção bem definido (TONINI et al., 2022), vários estudos testam diferentes metodologias, onde o tempo de aplicação da substância irrigadora pode variar entre 1, 3 e 5 min (BACA et al., 2011; ARIAS MOLIZ et al., 2015; MALKHASSIAN et al., 2009). Outra análise é que as aplicações passivas de corante por 5 e 15 min nas regiões do dente foram semelhantes ($p > 0,05$), o que mostra que, ao contrário do que acontece com o uso da iontoforese, o tratamento passivo por mais tempo é igualmente ineficaz para melhorar a distribuição de fármacos em comparação com tratamentos de curta duração, ou seja, deixar o fármaco por tempos de aplicação mais longos não resulta em melhor distribuição e penetração de substâncias em canais radiculares e túbulos dentinários.

5.2 Determinação da resistência elétrica dos dentes humanos

A resistência elétrica é definida como a capacidade de um *corpo* de opor-se à passagem da corrente elétrica e está intimamente relacionada a tensão elétrica (HALLIDAY; RESNICK, 2010), dessa forma, para aplicação de iontoforese nos dentes de maneira eficaz e segura, é crucial a determinação deste parâmetro nesta estrutura biológica.

Já a resistividade é a propriedade que define o quanto um *material* opõe-se à passagem da corrente elétrica. Assim, a resistência elétrica depende das características e do material que compõe o condutor, de acordo com a equação 10, onde R é a resistência elétrica (Ω), ρ é a resistividade do material ($\Omega.m$), L (m) é o comprimento do material e A (m^2) é a área do material (HALLIDAY; RESNICK, 2010).

$$R = \frac{\rho \times L}{A} \quad \text{Eq. 10}$$

A resistência elétrica dos dentes humanos não acessados está representada pela Figura 25. Os dentes de todos os grupos apresentaram resistência semelhante ($p = 0,2280$), bem como os mandibulares e maxilares de cada grupo ($p > 0,05$) mesmo que os dentes mandibulares tenham apresentado resistência maior.

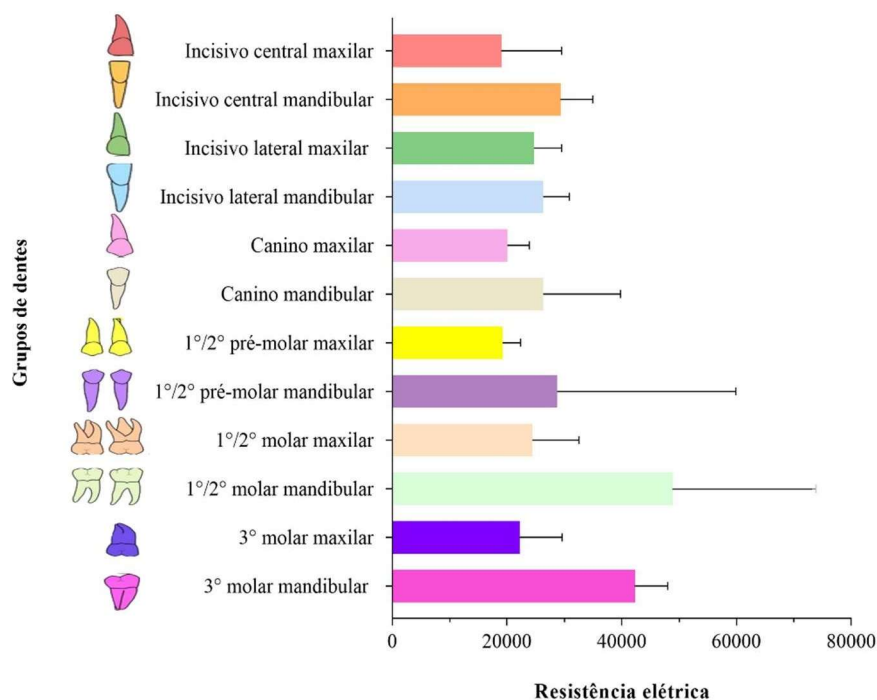


Figura 25. Resistência elétrica dos dentes humanos não acessados. A análise estatística foi realizada por one-way ANOVA - comparando a média de cada coluna com a média de todas as outras colunas (análises agrupadas) para verificar diferença entre os grupos de dentes, e múltiplos testes t – um por linha (análises agrupadas) para verificar diferença entre dentes mandibulares e maxilares.

Segundo a primeira lei de Ohm, a corrente elétrica é inversamente proporcional à resistência elétrica dos corpos, de forma que quanto maior a resistência elétrica de um corpo, menor será a corrente elétrica a atravessá-lo (HALLIDAY; RESNICK, 2010).

Assim sendo, o fato da resistência apresentar-se de forma semelhante para todos os dentes (Fig. 25) sugere a possibilidade de escolha de uma única densidade de corrente para aplicação clínica em todos os dentes, o que contribuiria positivamente no momento da aplicação da iontoforese pelos profissionais endodontistas durante a desinfecção dos canais radiculares.

Ainda, mesmo que dados de condutividade elétrica das estruturas do dente já existam na literatura (SANDROLINI, 2013) e, através desta propriedade seja possível calcular a resistividade (Eq. 11) (HALLIDAY; RESNICK, 2010) a medida da resistência dos dentes se tornou essencial.

$$\sigma = \frac{1}{\rho}, \text{ onde } \sigma \text{ é condutividade S/m} \quad \text{Eq. 11}$$

A dentina e o esmalte possuem condutividade de 10^{-3} S/m e 10^{-5} S/m respectivamente (SANDROLINI, 2013), portanto as resistividades calculadas de 1000 $\Omega.m$ e 100000 $\Omega.m$ são consideradas altas em comparação com materiais condutores como cobre ($1,69 \times 10^{-8} \Omega.m$) e platina ($10,6 \times 10^{-8} \Omega.m$) (HALLIDAY; RESNICK, 2010). Assim, segundo a equação 7, quanto maior a resistividade de um material, maior será a resistência do corpo em questão, o que está de acordo com as resistências dos dentes obtidas neste estudo (Fig. 25).

O desvio padrão elevado obtido (Figs. 27 e 28) pode ser explicado pelo fato de que os dentes são estruturas individuais e complexas (NORTON; NETTER, 2016), onde a espessura de cada parte do dente difere de pessoa para pessoa (WANASATHOP; KEVIN, 2018), embora tenham sua composição básica padrão de esmalte, dentina e polpa (NANCI, 2018). Portanto, dentes de um mesmo grupo, mas de indivíduos diferentes, podem apresentar variações em sua anatomia e formato, principalmente nos canais radiculares (MAZZI-CHAVES et al., 2020). Além de que os dentes coletados são de diversos pacientes diferentes e, pelos próprios princípios éticos da pesquisa, não é possível qualquer tipo de identificação destes participantes.

O processo de acessar os dentes remove parte de esmalte e dentina, estruturas que apresentam resistividade considerável, por isso a resistência elétrica de dentes acessados foi determinada e comparada aos dentes não acessados.

Os terceiros molares humanos acessados apresentaram resistência elétrica consideravelmente menor em relação aos dentes não acessados ($p = 0,0058$) (Fig. 25).

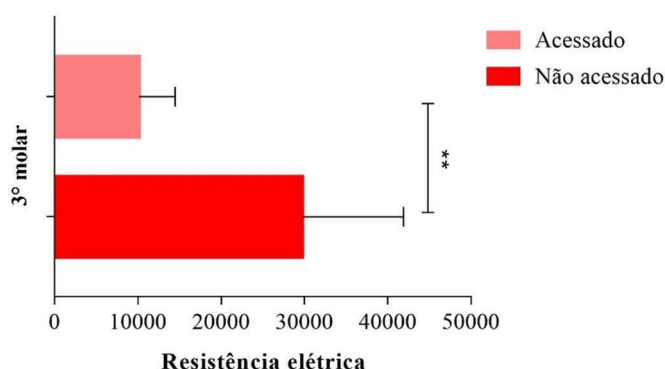


Figura 26. Resistência elétrica dos terceiros molares humanos. A análise estatística foi realizada por múltiplos testes t – um por linha (análises agrupadas). * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$.

A primeira lei de Ohm também explica que a resistência é diretamente proporcional a

tensão elétrica, pois o sistema necessita de mais energia para permitir a passagem da corrente elétrica (HALLIDAY; RESNICK, 2010), então quando há aumento da resistência, há aumento da tensão.

Alguns dentes não acessados apresentaram tensão de aproximadamente 100V durante a aplicação de 1,5mA, sendo a tensão obtida na aplicação de 0,5mA consideravelmente menor, em torno de 20V. Mesmo que as resistências tenham sido as mesmas com a aplicação das duas correntes, devido a proporcionalidade da Lei de Ohm, o efeito do aumento da tensão, que ocorre naturalmente com o aumento da corrente poderia ser prejudicial aos tecidos orais ou trazer certo grau de desconforto ao paciente (ZEMAITIS et al., 2023; BOUNDS; KHAN; KOK, 2023), o que também justificaria a aplicação de 0,5mA por 15min com os eletrodos de Ag/AgCl ao invés de 1,5mA por 5min (Fig. 24). Dessa forma, no possível desenvolvimento de uma tecnologia inovadora de iontoforese para uso odontológico, é fundamental que o equipamento incorpore um mecanismo de segurança capaz de controlar a tensão produzida, garantindo que o paciente não seja exposto a riscos de choque elétrico.

Levando em consideração que quanto menor a resistência de um corpo, maior será a corrente elétrica a atravessá-lo (HALLIDAY; RESNICK, 2010), os dentes acessados favorecem a passagem da corrente elétrica pelo “caminho” gerado pelo acesso da câmara pulpar seguindo para os canais radiculares, fator que contribui para uma melhor distribuição de substâncias nessas estruturas, suas irregularidades e túbulos dentinários.

5.3 Avaliação da intensidade de absorbância do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno frente a corrente elétrica

Tendo em vista que a iontoforese apresentou-se de maneira segura para administração de substâncias em dentes, considerando variáveis como corrente e tensão elétricas, bem como a resistência elétrica dos dentes humanos, moléculas antimicrobianas como o CHX e o BD foram submetidas à teste de avaliação de estabilidade frente a corrente elétrica.

A Figura 27 mostra o espectro de tais moléculas antes e depois da aplicação de iontoforese.

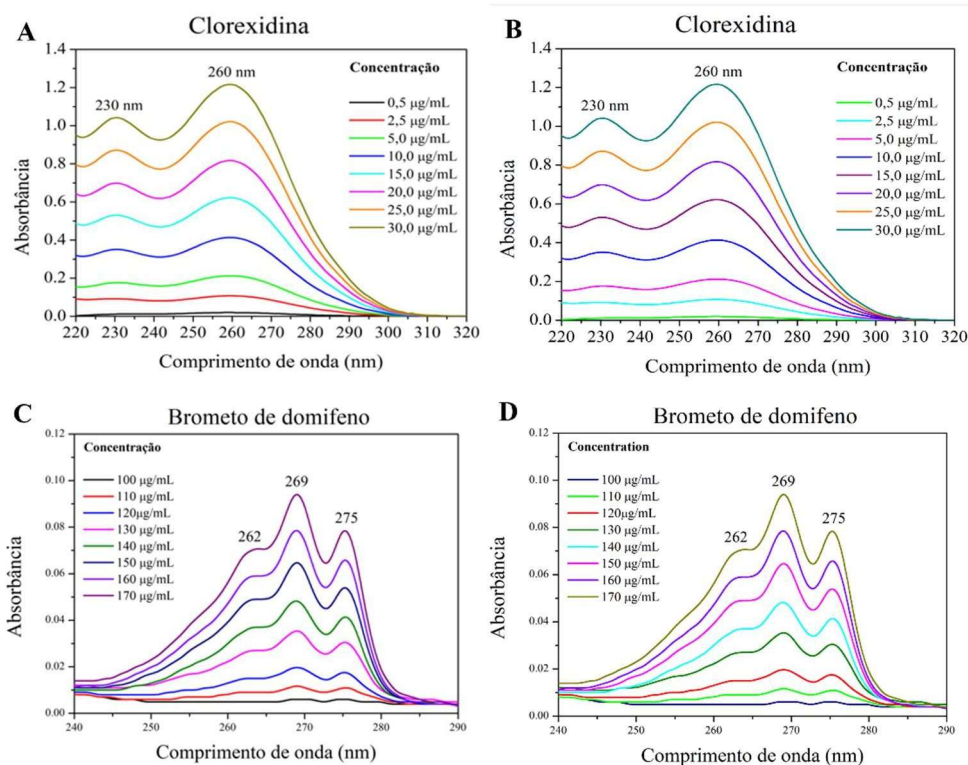


Figura 27. Espectros do CHX e do BD. (A) Espectro do CHX antes da corrente elétrica. (B) Espectro do CHX depois da corrente elétrica. (C) Espectro do BD antes da corrente elétrica. (D) Espectro do BD depois da corrente elétrica.

Não houve alteração nas moléculas quando submetidas a 30min de corrente elétrica a 2mA, parâmetros que excedem o tempo e a densidade de corrente utilizadas na prova de conceito, sendo possível a aplicação da iontoforese nessas moléculas de forma que não haja nenhum tipo de degradação e possível alteração em sua ação.

5.4 Desenvolvimento do dispositivo IontoBite para aplicação de iontoforese dentária

O modelo preliminar do dispositivo IontoBite (Fig. 28) foi desenvolvido e conta com patente depositada. Entretanto, a validação do protótipo com um grupo adicional de endodontistas apontou inadequações no desenho, evidenciando a necessidade de modificações estruturais. Tal modelo dificultaria o isolamento do dente a ser tratado. Mostra-se mais apropriado, portanto, um modelo que possibilite a aplicação da iontoforese em associação aos materiais empregados no isolamento do dente alvo. Nessa configuração, o fechamento da boca pelo paciente torna-se impraticável, exigindo que ele mantenha a cavidade oral aberta durante todo o processo.

Patente: Desenho Industrial. Número de registro: BR3020240000430.

Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

Depósito: 09/01/2024.

GRATIERI, G.; JUNIOR, J. R. C.; GELFUSO, G.; CUNHA-FILHO, M. MIRANDA, T. C. **Configuração de dispositivo de formato e dimensões anatômicas à mordida humana para aplicação de iontoforese dentária.**



Figura 28. Dispositivo para aplicação de iontoforese durante tratamento endodôntico. (A) Reservatório do fármaco. (B) Peça complementar acoplando os eletrodos. (C) Representação do modelo com a mordida do paciente.

5.5 Avaliação da influência de diferentes materiais de eletrodos na eficácia da iontoforese

5.5.1 Dente bovinos

A aplicação iontoforética com eletrodo de aço inoxidável proporcionou melhor penetração do corante nos túbulos dentinários em comparação a aplicação passiva por 5min e 15min ($p < 0,05$) em todas as regiões dos dentes. Além de que as aplicações iontoforéticas a 1,5mA por 5min e 0,5mA por 15min apresentaram diferença significativa, sendo que 0,5mA por 15min proporcionaram penetração mais significativa do corante através dos túbulos dentinários nas regiões cervical ($p = 0,0070$), média ($p = 0,01133$) e apical ($p = 0,0453$) (Fig. 29).

O fato de que 0,5mA por 15min tenham apresentado penetração do azul de metileno mais significativa nos túbulos dentinários pode ter ocorrido, pois o maior tempo de aplicação compensou a menor corrente, da mesma forma que nos eletrodos de Ag/AgCl.

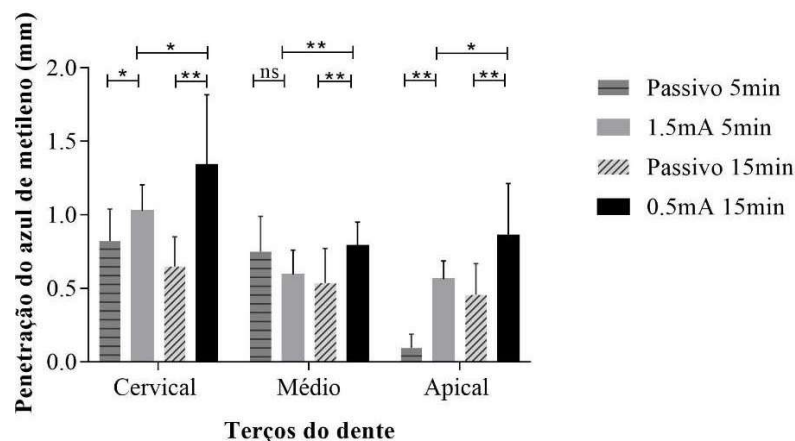


Figura 29. Penetração passiva por 5min e 15min e iontoforética do azul de metileno a 0,5mA por 15min e 1,5mA por 5min, utilizando eletrodo de aço inoxidável. A análise estatística foi realizada por múltiplos testes t – um por linha (análises agrupadas) * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *ns* é não significativo.

Já a iontoforese aplicada com eletrodo de NiTi apresentou penetração do corante nos túbulos dentinários semelhante a aplicação passiva por 5min nas regiões cervical ($p = 0,07902$) e média ($p = 0,4906$), e somente na região apical a 1,5mA por 5min é que houve diferença significativa ($p = 0,0022$). Além de que as aplicações iontoforéticas a 0,5mA por 15min e 1,5mA por 5min não apresentaram diferença significativa nas regiões cervical ($p = 0,7730$), média ($p = 0,4931$) e apical ($p = 0,3279$) (Fig. 30).

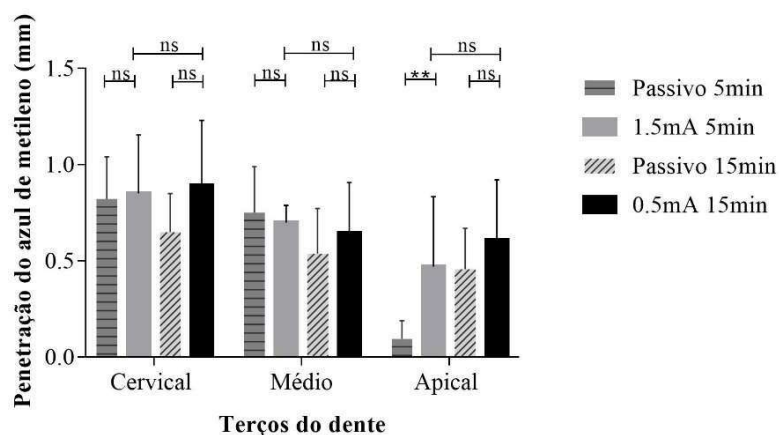


Figura 30. Penetração passiva por 5min e 15min e iontoforética do azul de metileno a 0,5mA por 15min e 1,5mA por 5min, utilizando eletrodo de níquel-titânio (NiTi). A análise estatística foi realizada por múltiplos testes t – um por linha (análises agrupadas) * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *ns* é não significativo.

Os pHs das soluções após as aplicações iontoforéticas dos eletrodos de aço inoxidável e NiTi são mostrados na tabela 2. O pH inicial das soluções foi igual a 7.

Eletrodo de aço inox		Eletrodo de NiTi	
0,5mA por 15min	1,5mA por 5min	0,5mA por 15min	1,5mA por 5min
4,01	4,22	3,80	3,11
4,07	4,09	3,63	3,03
4,03	3,80	3,62	3,44

Tabela 2. Variação de pH após as aplicações iontoforéticas a 0,5mA por 15min e 1,5mA por 5min com eletrodos de aço inoxidável e de NiTi. O pH inicial mensurado foi igual a 7.

Eletrodos inertes como os de aço inoxidável e de NiTi podem causar hidrólise da água, gerando íons hidrônio e íons hidroxila, que podem competir com o fármaco ionizado, reduzindo seu número de transporte (GRATIERI et al., 2008). Além disso, a hidrólise da água pode alterar o pH do meio (GRATIERI et al., 2008), afetando o processo de desmineralização dos dentes (SURESH et al., 2022; O'HAGAN-WONG et al., 2022). Este processo pode ser observado na tabela 3, onde, com os eletrodos de aço inoxidável e de NiTi, houve alteração do pH das soluções devido ao processo de hidrólise. Uma forma de evitar esse processo seria adicionando uma solução tampão na solução doadora (KALIA et al., 2004).

A Figura 31 mostra as diferenças entre as aplicações iontoforéticas com os diferentes tipos de eletrodos. Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre os eletrodos na aplicação a 0,5mA por 15min, porém a aplicação a 1,5mA por 5min demonstrou que os eletrodos de Ag/AgCl possuem maior efeito na penetração do corante nos túbulos dentinários ($p < 0,05$) em relação aos outros eletrodos. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os eletrodos de aço inoxidável e de NiTi.

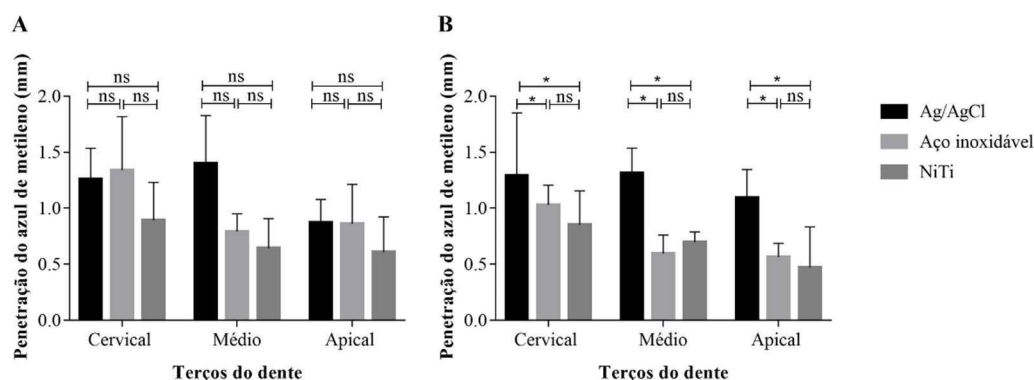


Figura 31. Diferenças entre as aplicações iontoforéticas com os diferentes tipos de eletrodos a (A) 0,5mA por 15min e (B) 1,5mA por 5min.

O fato de que os eletrodos de Ag/AgCl apresentaram melhor penetração do corante nos túbulos dentinários a 1,5mA por 5min em comparação a 0,5mA por 15min pode ser explicado pois, após um tempo de aplicação mais longo, a disponibilidade de íons Cl^- no ânodo pode tornar-se insuficiente para sustentar o equilíbrio eletroquímico, levando à liberação de Ag^+ pela superfície ativa do eletrodo. Esses íons metálicos, ao competirem com o fármaco catiônico pelo transporte de carga, reduzem sua capacidade de liberação (KALIA et al., 2004; GRATIERI et al., 2008).

Como pode ser observado na Figura 29, não houve diferença estatística significativa entre as aplicações passiva por 5min e iontoforética a 1,5mA por 5min no terço médio do dente e nos terços cervical e apical houve diferença, o que pode ser explicado pela distribuição irregular dos túbulos dentinários na dentina (AROLA et al., 2017; GARBEROGLIO; BRANNSTROM, 1976; JUD et al., 2016). Além de que, com eletrodos NiTi, houve diferença estatística significativa entre as aplicações passiva por 5min e iontoforética a 1,5mA por 5min e nos demais terços do dente não houve diferença (Fig. 30).

A Figura 32 demonstra que o fio de prata pura apresenta capacidade equivalente de aumentar a penetração do corante em comparação com os eletrodos tradicionais de Ag/AgCl ($p > 0,05$), confirmando sua viabilidade como uma alternativa mais prática para aplicação clínica. Como demonstrado na Figura 29, a condição de 1,5 mA por 5 minutos promove maior penetração do corante nos túbulos dentinários quando utilizados eletrodos de Ag/AgCl, apresentando diferença estatisticamente significativa em relação aos outros tipos de eletrodo ($p < 0,05$). Por esse motivo, esses parâmetros foram selecionados para a comparação direta com o fio de prata pura.

Além disso, a eliminação do processo complexo de preparação do AgCl, que requer aproximadamente 24 horas de tratamento eletroquímico (GRATIERI, 2010) representa um avanço significativo na implementação prática da iontoforese endodôntica.

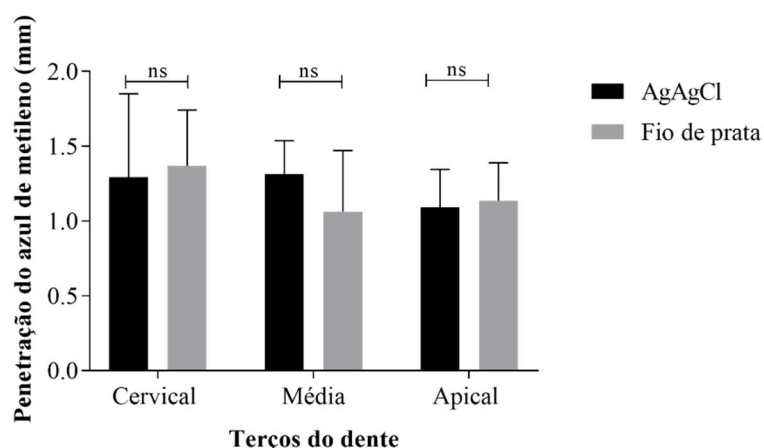


Figura 32. Penetração do corante azul de metileno com eletrodos de Ag/AgCl comparada à de fio de prata pura após aplicação de iontoforese a 1,5 mA por 5 min. A análise estatística foi verificada por meio de múltiplos testes t – um por linha (análises agrupadas), ns não significativo.

5.5.2 Dentes humanos

Como o fio de prata proporcionou penetração de azul de metileno semelhante à dos eletrodos de Ag/AgCl em dentes bovinos (Fig. 32), este fio foi posteriormente testado em espécimes humanos. Como resultado, a iontoforese aumentou a penetração do corante no canal radicular humano e nos túbulos dentinários (Fig. 33), que são de menor calibre, especialmente na região apical, área é mais desafiadora em endodontia (AJMI et al., 2024; VERTUCCI, 2005).

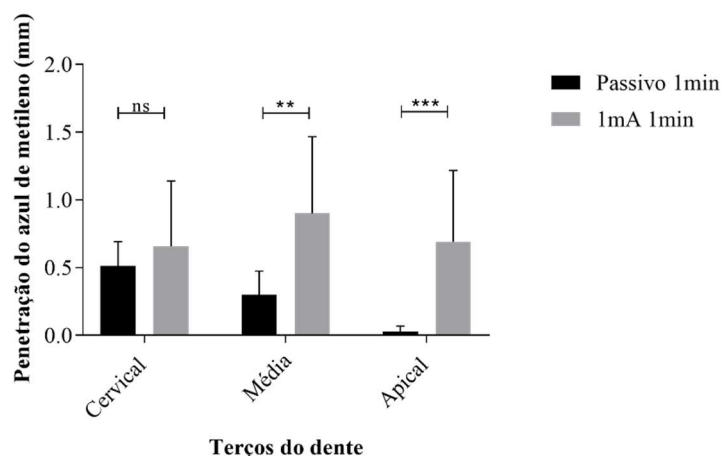


Figura 33. Penetração do corante azul de metileno em dentes humanos obtida por aplicação passiva durante 1 min e por aplicação iontoforética a 1 mA durante 1 min. A análise estatística foi verificada por meio de múltiplos testes t – um por linha (análises agrupadas) * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns não significativo.

5.6 Avaliação da possibilidade de utilizar sistema tampão para manutenção do pH

5.6.1 Validação do método bioanalítico

5.6.1.1 Linearidade

De acordo com a Figura 34, observa-se que o método analítico apresentou linearidade na faixa de concentração avaliada, descrita pela equação da reta ($y = 93632x + 67985$), com coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9995$) e coeficiente de correlação ($r = 0,9997$). Tais parâmetros evidenciam relação linear entre a resposta instrumental e a concentração de LD.

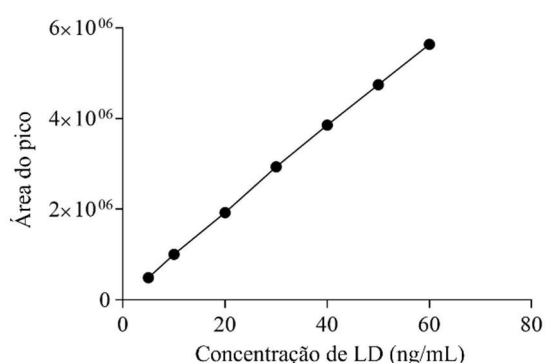


Figura 34. Curva analítica da LD em metanol nas concentrações de 5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL, 30 ng/mL, 40 ng/mL, 50 ng/mL e 60 ng/mL.

5.6.1.2 Efeito matriz

A Tabela 3 apresenta os valores médios do fator de matriz para cada nível de concentração avaliado. Verifica-se que todas as concentrações, analisadas em triplicata, permaneceram dentro dos limites de aceitação estabelecidos (85%–115%) (European Medicines Agency Guideline on Bioanalytical Method Validation, 2015). Esses resultados evidenciam a ausência de interferência significativa da matriz.

Concentração (ng/ml)	Fator de matriz (%)
10	85,7
30	86,6
60	89,2

Tabela 3. Valores médios do fator de matriz correspondentes a cada concentração analisada.

5.6.1.3 Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) do método foram estabelecidos

em 0,899 ng/mL e 2,725 ng/mL, respectivamente, evidenciando elevada sensibilidade analítica e adequada capacidade de quantificação nas faixas de concentração investigadas.

5.6.1.4 Precisão e exatidão

A tabela 4 apresenta os dados de precisão e exatidão. Não foram verificados pontos fora dos limites preconizados, que aceita desvios de até 5% para precisão, e de 15% para exatidão.

Dia	Concentração (ng/ml)	Precisão (CV %)	Exatidão (%)
1	10	1.62 ± 0.16	96,42
	30	1.91 ± 0.60	103,69
	60	2.25 ± 1.37	101,46
2	10	3.02 ± 0.30	100,53
	30	2.74 ± 0.84	102,24
	60	0.68 ± 0.41	99,11
3	10	2.26 ± 0.22	98,49
	30	3.69 ± 0.20	108,21
	60	2.35 ± 1.51	106,77

Tabela 4. Dados de precisão e exatidão.

5.6.1.5 Recuperação

Para as concentrações avaliadas de 10, 30 e 60 ng/mL, as taxas de recuperação obtidas foram de 94,1 ng/mL, 101,35 ng/mL e 96,82 ng/mL, respectivamente. Observa-se que todas as concentrações apresentaram recuperações superiores a 80%, atendendo aos critérios de aceitação e evidenciando a adequada eficiência do processo extrativo.

Esses achados estão em consonância com os demais ensaios de validação, reforçando a confiabilidade e o desempenho do método analítico empregado para a quantificação de LD em todas as etapas do processo de validação.

5.6.2 Definição da concentração do tampão

O tampão HEPES em concentração de 150mM demonstrou ser o mais adequado para evitar mudanças no pH da solução (Tabela 5).

Durante a aplicação da iontoforese utilizando eletrodos de aço inoxidável, observou-se que, na presença do tampão HEPES, houve alteração visível tanto na coloração da solução quanto na aparência superficial do eletrodo, semelhante a um processo de oxidação (Fig. 35). Esse fenômeno pode ser explicado pela composição do próprio aço inoxidável, que consiste em uma liga de ferro com, no mínimo, 11% de cromo. Embora esse material apresente elevada resistência à corrosão, pequenas quantidades de metais podem ser liberadas quando expostos a determinados meios aquosos (HEDBERG; WALLINDER, 2016). Essa liberação não ocorre em

condições estritamente passivas, mas predominantemente em situações que favorecem processos de dissolução eletroquímica (HEDBERG; WALLINDER, 2016). Além disso, um estudo demonstrou que determinados tampões biológicos, como HEPES e MOPS, podem interferir na autoxidação de metais (TADOLINI, 1987), o que pode explicar a mudança de coloração observada no presente estudo.

Diante dessas alterações físico-químicas e visando evitar interferências nos resultados experimentais, os eletrodos de aço inoxidável não foram utilizados nas etapas subsequentes dos testes.

Solução	pH inicial	pH após iontoforese
Água	7.00 ± 0.05	3.70 ± 0.06
HEPES 150 mM	$7,00 \pm 0,05$	$7,00 \pm 0,02$

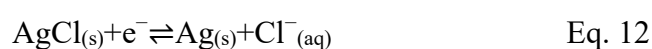
Tabela 5. Definição da concentração do tampão HEPES.



Figura 35. Oxidação do eletrodo de aço inoxidável na presença de tampão HEPES.

5.6.3 Estudos de permeação

A Figura 36 mostra que, ao contrário do esperado, tanto a penetração quanto a permeação de LD através da pele foram reduzidas na presença do tampão HEPES. Uma hipótese que pode explicar esse comportamento é a complexação do tampão HEPES com os íons Ag^+ (BABEL; BONNET-GÓMEZ; FROMM, 2020) o que desestabiliza o funcionamento ideal de Ag/AgCl . O funcionamento eletroquímico desses eletrodos é baseado na equação 12 (GRATIERI et al., 2008).



Esse equilíbrio depende criticamente da disponibilidade de íons cloreto nas proximidades do eletrodo. Quando o tampão HEPES é adicionado, ocorre interação entre Ag^+ e o tampão, levando à formação parcial de complexos Ag–HEPES. Embora o eletrodo de Ag/AgCl opere de forma ideal quando o Ag^+ formado reage imediatamente com Cl^- para regenerar AgCl(s), a complexação pela molécula de HEPES reduz a fração de Ag^+ livre disponível para essa recombinação (BABEL; BONNET-GÓMEZ; FROMM, 2020).

Essa perturbação afeta diretamente o equilíbrio da reação do ânodo. Quando parte do Ag^+ formado não se converte em AgCl, ocorre uma redução na eficiência da transferência de carga associada à reação eletroquímica. Como consequência, o eletrodo torna-se parcialmente polarizável, o que afeta a liberação de elétrons no eletrodo e modifica o balanço iônico necessário para manter a neutralidade elétrica do sistema. Quando o mecanismo Ag/AgCl não opera plenamente, a contribuição do fármaco catiônico pode diminuir, o que explica a reduzida penetração e permeação da LD quando comparada à ausência do tampão.

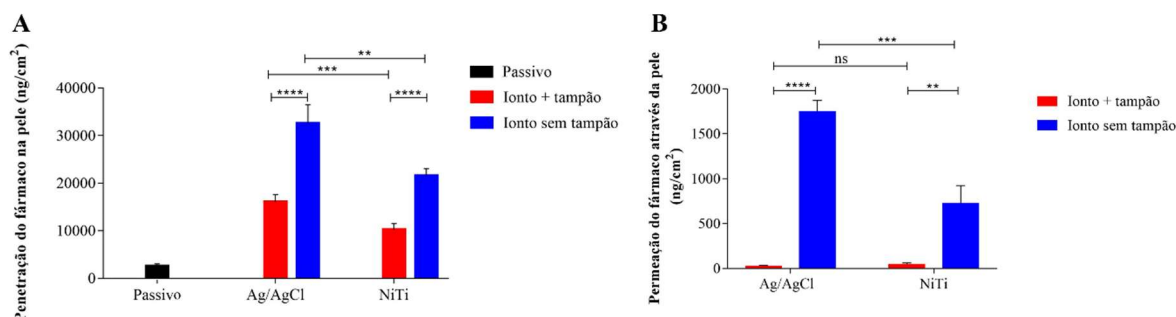


Figura 36. Penetração (A) e permeação (B) de LD através da pele com aplicação iotoforética a 0,5 mA/cm² por 15 min.

O eletrodo de NiTi também apresentou menor penetração e permeação quando em contato com o tampão HEPES em comparação a amostra sem tampão, o que pode ser explicado pelo processo de dissolução eletroquímica ao qual a liga de níquel-titânio está sujeita durante a passagem da corrente elétrica (LOUKIL; BEN FRAJ, 2025; SOLTAN et al., 2023). Além disso, o tampão HEPES pode intensificar tal processo ao interagir com a superfície metálica, de maneira análoga ao que foi descrito para o aço inoxidável, ainda que, no caso do NiTi, essas alterações não tenham sido visualmente detectáveis.

Em relação a dissolução eletroquímica gerada pela corrente elétrica, os íons metálicos liberados na solução, como Ni^{2+} e Ti^{4+} (LOUKIL; BEN FRAJ, 2025; SOLTAN et al., 2023), podem competir com o fármaco positivamente carregado, reduzindo seu número de transporte,

o que pode justificar a menor eficiência na penetração e permeação de LD.

Na tentativa de empregar materiais mais familiares à prática endodôntica, avaliou-se inicialmente o uso de eletrodos confeccionados em aço inoxidável e níquel-titânio. Entretanto, por se tratar de eletrodos inertes, ambos induzem à redução do pH das soluções durante a iontoforese, o que pode ser prejudicial, tendo em vista que valores de pH mais baixos estão associados ao aumento do risco de desmineralização dentária (SURESH et al., 2022; O'HAGAN-WONG et al., 2022). Como estratégia para mitigar essa situação, testou-se a adição do tampão HEPES, contudo, ao contrário do esperado, o tampão prejudicou o desempenho da iontoforese, reduzindo a penetração e a permeação da LD, conforme demonstrado na Figura 36.

Considerando esses resultados e o fato de que o eletrodo de prata pura apresentou bom desempenho na aplicação da iontoforese, sem provocar queda de pH e sem demandar processos artesanais e demorados de confecção, concluiu-se que o eletrodo de prata pura constitui a melhor opção para a aplicação de iontoforese em condições dentárias. Dessa forma, ele foi adotado como o eletrodo padrão nas etapas subsequentes deste estudo.

5.7 Ensaios de concentração inibitória mínima, concentração bactericida mínima, curva Time-Kill e sinergismo do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno contra *Enterococcus faecalis*

5.7.1 Concentração inibitória mínima (MIC) e Concentração bactericida mínima (CBM)

A Figura 37 mostra que os MICs foram definidos em 5 µg/mL para CHX, 0,625 µg/mL para o BD e 781,8 para o NaOCl. A comparação direta entre esses valores demonstra que ambos os fármacos em teste exibem potência antimicrobiana substancialmente superior à do NaOCl, o que reforça o potencial dos compostos avaliados como alternativas mais eficazes para o controle microbiano em sistemas de canais radiculares.

As CBMs da CHX, do BD e do NaOCl foram definidas em 80 µg/mL, 10 µg/mL e 1562,5 µg/mL, respectivamente.

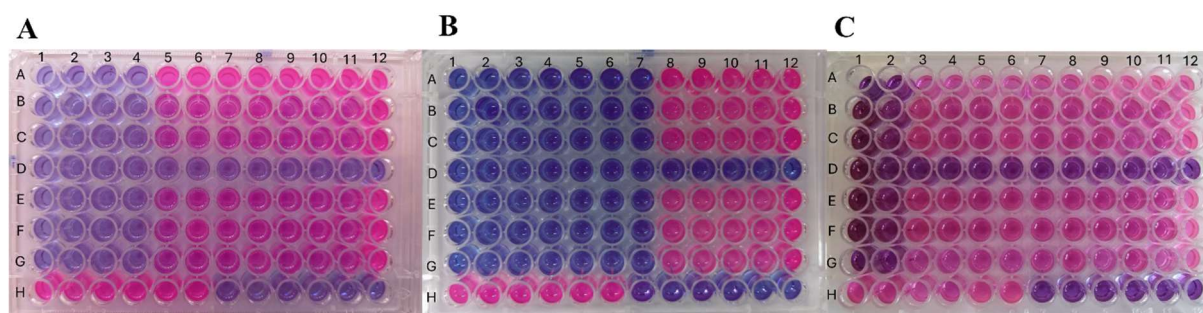


Figura 37. Concentrações inibitórias mínimas da CHX (A), do BD (B) e do NaOCl (C).

5.7.2 Ensaio de curva de tempo de morte (Time-kill curve)

As figuras 40, 41 e 42 mostram as curvas de tempo de morte de *E. faecalis* em contato com CHX, BD e NaOCl, respectivamente.

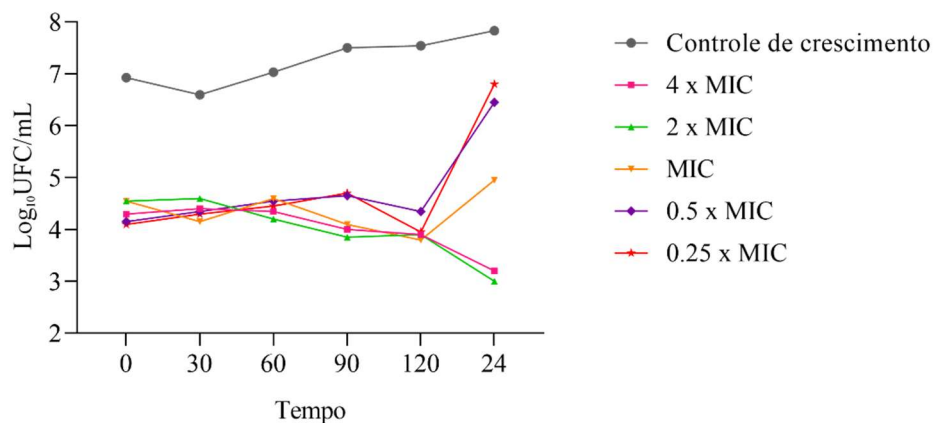


Figura 38. Curva de tempo de morte do CHX.

Todas as concentrações testadas apresentaram redução significativa do crescimento bacteriano em comparação ao controle ($p < 0,05$), entretanto, o principal diferencial entre elas está no comportamento ao longo do tempo.

As concentrações de $4 \times \text{MIC}$ e $2 \times \text{MIC}$ apresentaram ação progressiva ao longo do tempo, com redução contínua do crescimento bacteriano. No MIC, também houve ação antimicrobiana progressiva, porém observou-se um retorno do crescimento após aproximadamente 120 minutos. Já as concentrações inferiores ao MIC não demonstraram eficácia, sendo possível observar crescimento constante do inóculo ao longo de todo o período avaliado (Fig. 38).

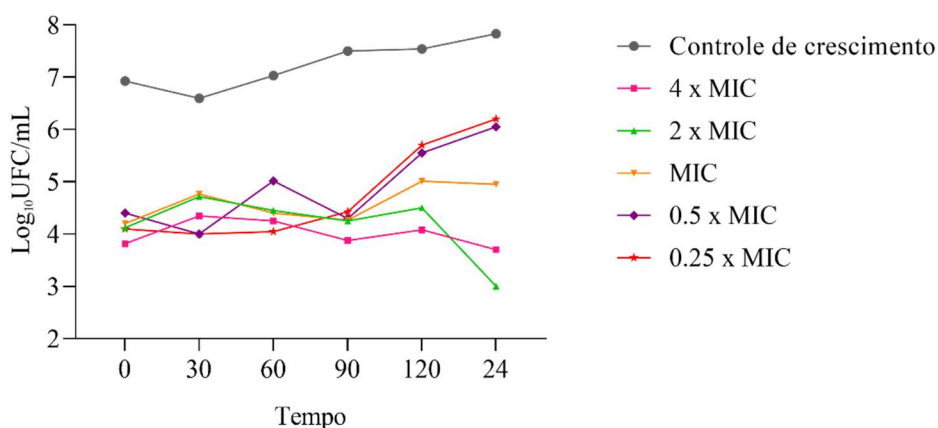


Figura 39. Curva de tempo de morte do BD.

Todas as concentrações promoveram redução do crescimento microbiano, porém as concentrações de $2\times\text{MIC}$ e $4\times\text{MIC}$ mostraram desempenho satisfatório, com aumento progressivo da morte bacteriana e resultados mais intensos próximos das 24 horas. O MIC apresentou uma ação mais estável, embora tenha sido observado um discreto aumento do crescimento bacteriano após aproximadamente 90 minutos. Já as concentrações abaixo da MIC mostraram comportamento instável ao longo do tempo, indicando que, a partir de 90 minutos, ocorre uma perda significativa de sua eficácia antimicrobiana (Fig. 39).

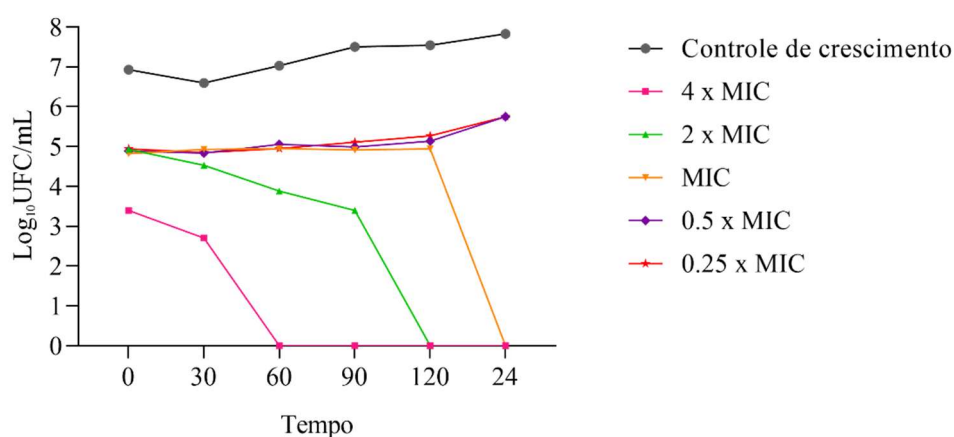


Figura 40. Curva de tempo de morte do NaOCl.

Todas as concentrações avaliadas foram capazes de reduzir o crescimento bacteriano. O MIC apresentou uma ação constante até 120 minutos, seguida por uma queda acentuada, alcançando eliminação completa em 24 horas. A concentração de $4\times\text{MIC}$ mostrou desempenho superior, com ação bactericida intensa e contínua, mantendo o crescimento bacteriano zerado ao longo de todo o período de 24 horas. Já a $2\times\text{MIC}$ também demonstrou efeito bactericida, embora de maneira mais lenta em comparação à $4\times\text{MIC}$. Por fim, nas concentrações abaixo do MIC, verificou-se uma redução progressiva e constante do crescimento bacteriano até os 120 minutos, após esse período, houve crescimento significativo, com perda da eficácia do antimicrobiano (Fig. 40).

Os resultados obtidos, em conjunto com os apresentados no item 5.7.1, demonstram que o BD se destacou como o fármaco mais potente, seguido pela CHX e, por último, pelo NaOCl. Embora o NaOCl apresente ação bactericida rápida, essa atividade ocorre apenas em concentrações significativamente mais elevadas que as dos demais agentes, o que aumenta o risco de efeitos adversos. De fato, concentrações mais altas estão associadas a maior citotoxicidade aos tecidos periapicais (PASHLEY et al., 1985; KHOURY et al., 2024) em que NaOCl a 5,25% gerou hemorragia em toda a área de contato, por ser um agente muito cáustico

e não específico, cuja ação não se limita ao tecido necrótico e é citotóxico para todas as células, exceto para os epitélios fortemente queratinizados (PASHLEY et al., 1985).

Apesar de a CHX também apresentar citotoxicidade em células semelhantes a odontoblastos, estudos mostram que concentrações de 0,06% e 0,12% provocam efeitos significativamente menos agressivos do que aquelas de 0,2%, 1% e 2% (LESSA et al., 2010), reforçando que doses menores tendem a ser mais seguras. Além disso, as combinações com BD apresentam baixa toxicidade (DU et al., 2023; YANG et al., 2023), embora ainda sejam necessários estudos mais aprofundados nessa área para garantir uma aplicação segura e eficaz.

Dessa maneira, CHX e BD mostram-se como alternativas menos tóxicas, uma vez que exercem seus efeitos antimicrobianos em concentrações substancialmente inferiores às requeridas pelo NaOCl.

5.8 Avaliação *in vitro* da ação do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno contra *Enterococcus faecalis* de forma passiva (sem iontoforese) e ativa (com iontoforese)

Em relação ao controle de crescimento, observa-se que os tratamentos reduziram significativamente as unidades formadoras de colônia ($p < 0,005$), com exceção do BD associado à iontoforese ($p = 0,8699$) (Figura 41), o que pode ser atribuído a possíveis interferências no funcionamento ideal do eletrodo, cujo mecanismo eletroquímico ocorre de acordo com a equação 9. Para que o ânodo funcione da forma ideal, há necessidade presença de íons Cl^- para as reações eletroquímicas, porém na solução doadora, onde há brometo de domifeno, há a presença de íons Br^- , que podem se ligar a Ag^+ , formando brometo de prata (AgBr), e impedindo que haja formação de AgCl e o decorrente funcionamento natural do eletrodo, de acordo com a equação 9. A baixa solubilidade do AgBr em meio aquoso (GLEDHILL, J. A.; MALAN, 1953) favorece condições de supersaturação quando íons Ag^+ e Br^- estão presentes em solução. Nessas condições, interações entre os íons podem levar à formação de agregados de pequena dimensão (clusters de AgBr), que atuam como espécies precursoras no processo de nucleação, evoluindo posteriormente para núcleos estáveis e crescimento cristalino do sólido (SHORE; PERCHAK; SHNIDMAN, 2000). Essas reações podem competir com a formação de AgCl e comprometer o funcionamento regular do eletrodo.

Como consequência, tais reações podem ter prejudicado a liberação do BD, reduzindo seu número de transporte. Esse achado torna-se ainda mais relevante ao se considerar que, na ausência da iontoforese, o BD foi capaz de reduzir significativamente a carga microbiana quando comparado ao controle de crescimento ($p = 0,0013$), sugerindo que possíveis interações

eletroquímicas possam ter limitado seu desempenho quando associado a iontoforese.

O CHX associado a iontoforese promoveu redução significativa da carga microbiana, apresentando eficácia semelhante à do NaOCl ($p = 0,9037$) (Figura 41). Esse achado revela-se altamente favorável, especialmente ao se considerar a possível redução da toxicidade proporcionada por esse protocolo terapêutico, quando comparado ao NaOCl, cuja citotoxicidade é amplamente documentada na literatura (RUKSAKIET et al., 2020; PASHLEY et al., 1985; KHOURY et al., 2024).

Observou-se, ainda, que a iontoforese empregada isoladamente foi capaz de reduzir o crescimento microbiano em comparação ao controle de crescimento ($p < 0,0001$). Além disso, quando associada a um fármaco antimicrobiano, como o CHX, a redução das unidades formadoras de colônia também é relevante ($p = 0,0061$), evidenciando que a combinação da iontoforese com um agente antimicrobiano potencializa sua ação, resultando em efeito positivo e com potencial para aplicabilidade clínica.

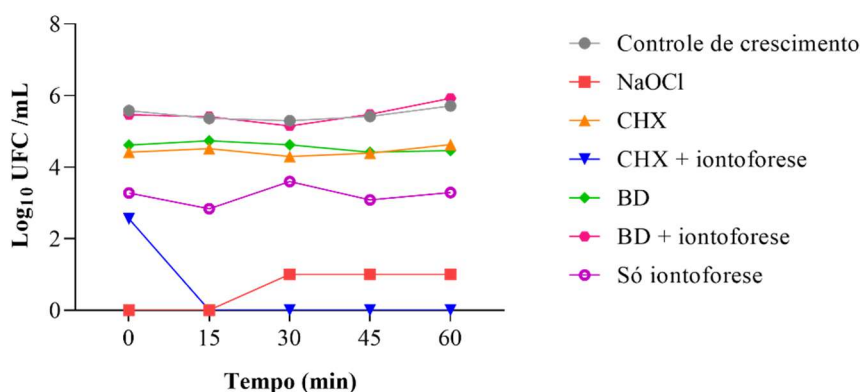


Figura 41. Unidades formadoras de colônia ($\text{Log}_{10}\text{UFC/mL}$) no decorrer do tempo (min) do NaOCl, CHX, CHX associado a iontoforese, BD, BD associado a iontoforese e iontoforese isolada em comparação ao controle de crescimento bacteriano.

Tais resultados estão de acordo com a porcentagem de redução da população microbiana (PR), representada pela imagem 44, em que o BD associado a iontoforese apresenta a menor PR ($\approx 90\%$) e a CHX associada a iontoforese apresenta PR comparável à do NaOCl ($\approx 99\%$).

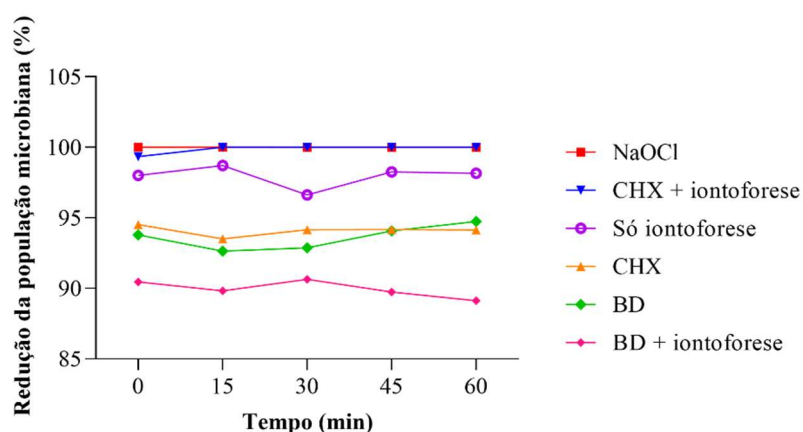


Figura 42. Redução da população microbiana (%) no decorrer do tempo (min) do NaOCl, CHX, CHX associado a iontoforese, BD, BD associado a iontoforese e iontoforese isolada.

5.9 Desenvolvimento de biofilme de *Enterococcus faecalis* nos canais radiculares de dentes humanos

Na Figura 43, é possível observar as imagens obtidas por MEV dos canais radiculares contaminados com *E. faecalis*, nas regiões cervical, média e apical. Nota-se contaminação expressiva pelo microrganismo, com evidente formação de biofilme e consequente obstrução dos túbulos dentinários em todas as regiões analisadas, sendo mais pronunciado na região média, onde não é possível visualizar os túbulos dentinários com a mesma clareza que nas outras regiões. Dessa forma, a metodologia de formação de biofilme mostrou-se eficaz para a condução dos experimentos *ex vivo*, pois possibilitou uma mimetização eficaz de um quadro de infecção endodôntica. As imagens obtidas durante essa etapa foram utilizadas como controle positivo de infecção, comprovando a formação do biofilme nas condições experimentais estabelecidas.

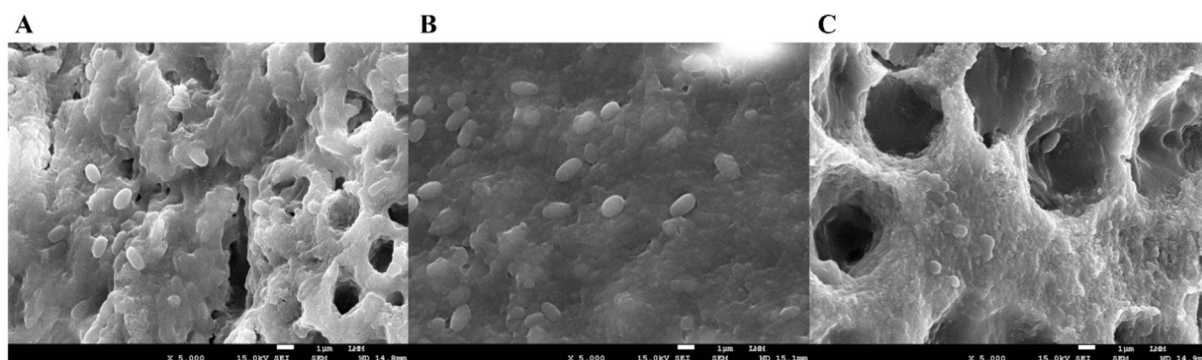


Figura 43. Microscopia eletrônica de varredura da formação de biofilme de *E. faecalis* nas regiões (A) cervical, (B) média e (C) apical.

5.10 Avaliação *ex vivo* da ação do digluconato de clorexidina e do brometo de domifeno contra biofilme de *Enterococcus faecalis* de forma passiva (sem iontoforese) e ativa (com iontoforese)

O tratamento com CHX demonstrou aparente redução da carga microbiana quando comparado ao grupo controle de crescimento, com desobstrução parcial dos túbulos dentinários (Fig. 44). De maneira semelhante, o tratamento com CHX a 2% associado à iontoforese (Fig. 45) apresentou comportamento equivalente, em que o tratamento ofereceu aparente redução da carga microbiana em comparação ao controle de crescimento (Fig. 43).

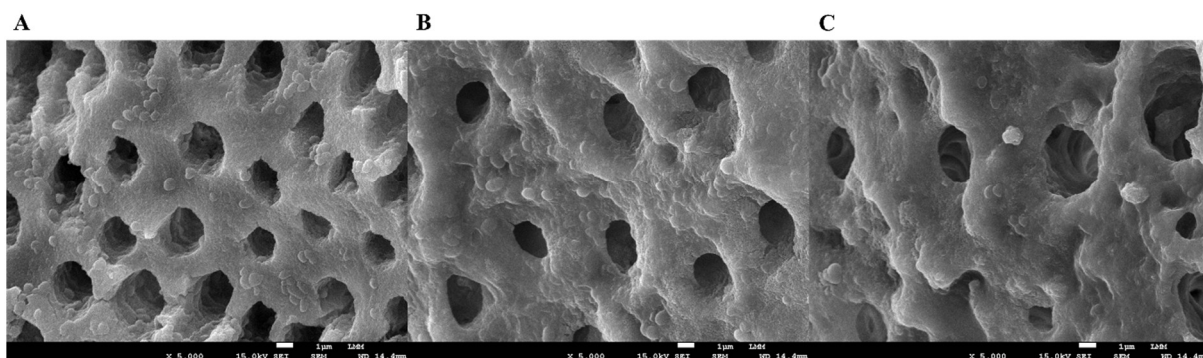


Figura 44. Microscopia eletrônica de varredura da ação do CHX 2% contra biofilme de *E. faecalis* nas regiões (A) cervical, (B) média e (C) apical.

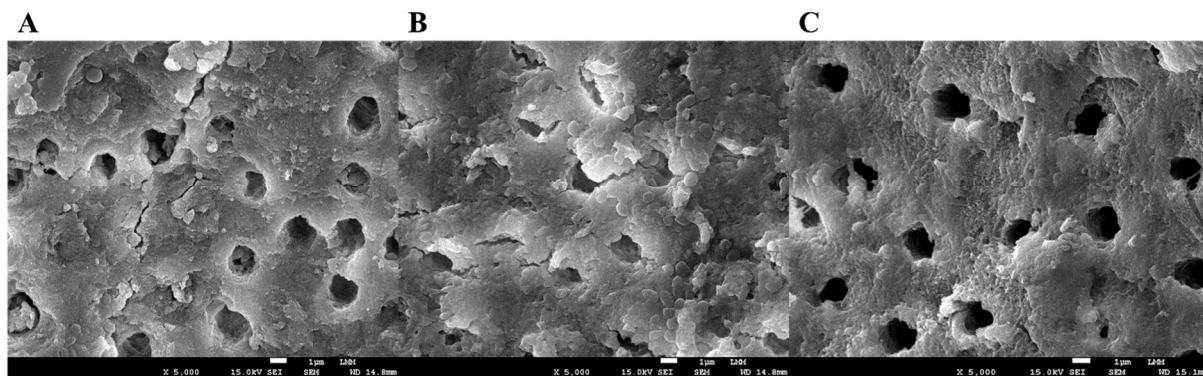


Figura 45. Microscopia eletrônica de varredura da ação do CHX 2% associado a iontoforese a 1mA por 1min contra biofilme de *E. faecalis* nas regiões (A) cervical, (B) média e (C) apical.

Já o tratamento com BD 0,1% (Fig. 46), quando comparado ao grupo controle (Fig. 43), não aparentou redução da carga microbiana, assim como a associação do BD 0,1% com a iontoforese (Fig. 47). Observa-se que, mesmo após a aplicação dos tratamentos, o biofilme e a carga microbiana permaneceram elevados, ainda com obstrução dos túbulos dentinários.

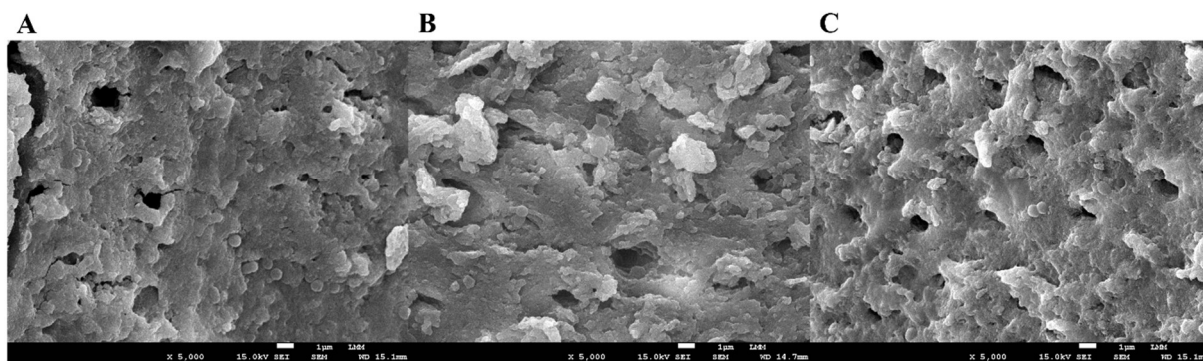


Figura 46. Microscopia eletrônica de varredura da ação do BD 0,1% contra biofilme de *E. faecalis* nas regiões (A) cervical, (B) média e (C) apical.

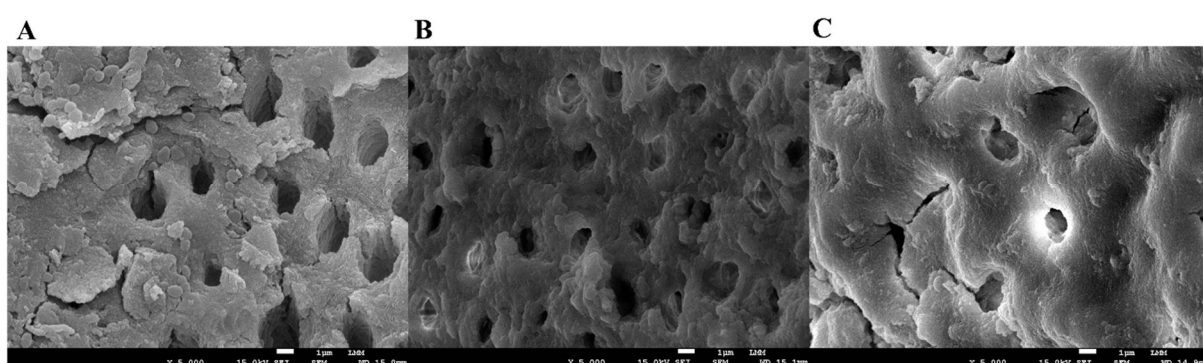


Figura 47. Microscopia eletrônica de varredura da ação do BD 0,1% associado a iontoforese a 1mA por 1min contra biofilme de *E. faecalis* nas regiões (A) cervical, (B) média e (C) apical.

O tratamento com NaOCl 2,5% apresentou-se eficaz na limpeza dos canais radiculares e túbulos dentinários, sendo capaz de reduzir consideravelmente a carga microbiana aparente em todas as regiões do dente (Fig. 48) tanto em relação ao controle de crescimento, quanto em relação ao controle negativo de tratamento somente com iontoforese sem qualquer ativo antimicrobiano (Fig. 49).

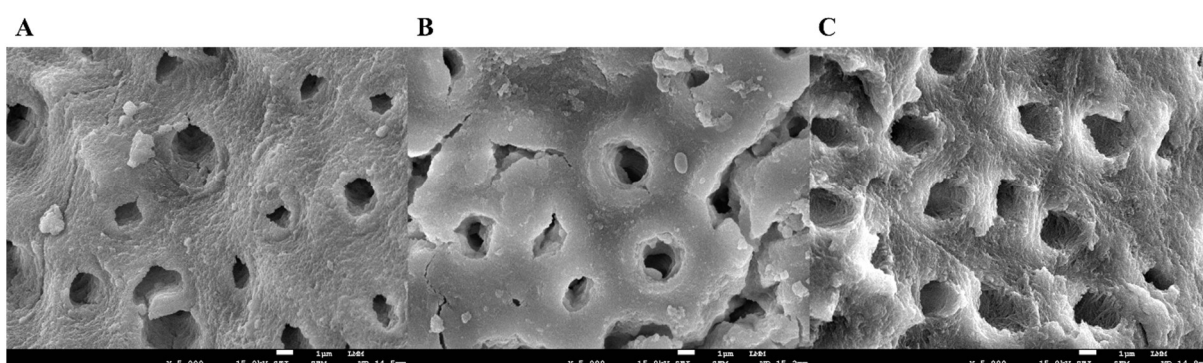


Figura 48. Microscopia eletrônica de varredura da ação do NaOCl 2,5% contra biofilme de *E. faecalis* nas regiões (A) cervical, (B) média e (C) apical.

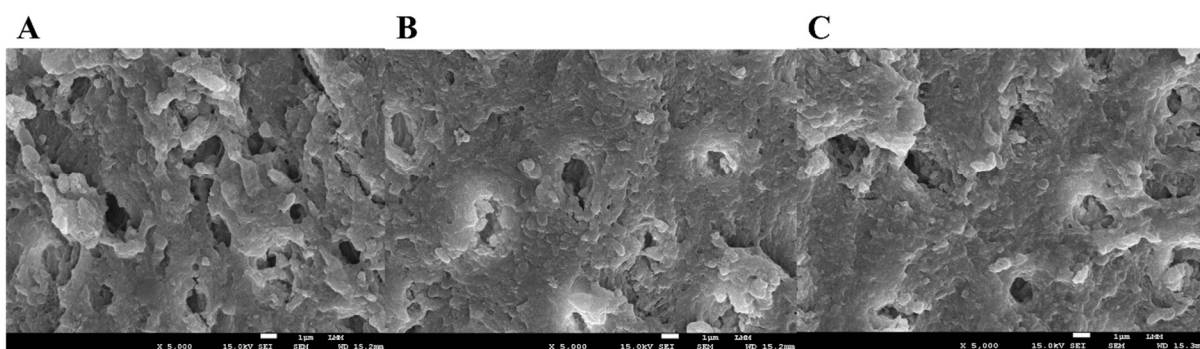


Figura 49. Microscopia eletrônica de varredura do controle negativo da iontoforese, ou seja, aplicação da corrente sem qualquer antimicrobiano, contra biofilme de *E. faecalis* nas regiões (A) cervical, (B) média e (C) apical.

Em relação aos resultados qualitativos obtidos nesta etapa, através da análise das imagens, foi possível observar que embora os dados obtidos forneçam indícios relevantes, é fundamental considerar as limitações inerentes ao modelo experimental adotado. Por se tratar de um estudo conduzido *ex vivo* (em dentes humanos extraídos), as condições não reproduzem integralmente a complexidade do ambiente biológico *in vivo*.

Nesse contexto, a aplicação da iontoforese com intensidade de 1 mA durante 1 minuto, embora metodologicamente controlada, pode não ter sido suficiente para promover uma resposta visual detectável no modelo utilizado.

Dessa forma, a ausência de resposta visual não deve ser interpretada como ausência de efeito da tecnologia, mas sim como uma limitação do modelo experimental e dos parâmetros empregados. Estudos futuros com ajustes nos parâmetros como intensidade e tempo de aplicação da iontoforese ou em condições *in vivo* poderão elucidar de maneira mais abrangente o potencial da técnica aplicada, contribuindo para uma interpretação mais fiel à realidade clínica.

6. Conclusão

A iontoforese demonstrou resultados promissores para uso em procedimentos endodônticos. Em um primeiro momento, a prova de conceito evidenciou que a técnica aumenta de forma significativa a penetração do azul de metileno nos canais radiculares e nos túbulos dentinários de dentes bovinos. Os parâmetros de 0,5 mA por 15 minutos mostraram-se adequados, considerando que correntes contínuas de até 1 mA são consideradas seguras para a estrutura dental. Esses achados também convergem com os testes de resistência elétrica, nos quais a aplicação de 0,5 mA gerou uma tensão em torno de 20 V mesmo em condições *ex vivo*, o que seria seguro para o paciente.

De qualquer forma, no possível desenvolvimento de uma tecnologia inovadora de iontoforese para uso odontológico, é fundamental que o equipamento incorpore um mecanismo de segurança capaz de controlar a tensão produzida, garantindo que o paciente não seja exposto a riscos.

Com base nos dados obtidos com o corante azul de metileno, a iontoforese passou a ser aplicada em dentes humanos utilizando 1 mA por apenas 1 min, uma vez que, na prática clínica, tempos mais curtos oferecem maior conforto ao paciente e maior eficiência ao profissional.

Os resultados microbiológicos demonstraram que tanto o CHX quanto o BD mostraram-se significativamente mais potentes do que o NaOCl, atualmente considerado o padrão ouro na endodontia. Esses achados indicam que tais moléculas possuem um poder de desinfecção superior mesmo em concentrações muito menores, o que reduz o risco de efeitos adversos ao paciente. Além disso, ambas demonstraram estabilidade frente à corrente elétrica, sem qualquer sinal de degradação durante o processo de iontoforese.

Neste trabalho, foram realizados diversos testes relacionados à temática, incluindo a avaliação da resistência das moléculas à passagem de corrente, a determinação da resistência elétrica dos dentes, fator determinante para a eficácia da iontoforese, e a comparação da capacidade e potência dos fármacos antimicrobianos em relação ao padrão-ouro atualmente utilizado, que apresenta alta toxicidade. A necessidade de alternativas mais seguras é evidente, a fim de minimizar possíveis danos aos tecidos adjacentes do paciente.

Os resultados obtidos reforçam o potencial da iontoforese como ferramenta auxiliar e fornecem uma base consistente para o desenvolvimento de futuras pesquisas, incentivando investigações mais aprofundadas sobre a associação de fármacos antimicrobianos à corrente elétrica em canais radiculares.

7. Referências bibliográficas

- ABIHPEC; ABDI; SEBRAE. **Guia de Microbiologia: controle microbiológico na indústria de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos – procedimentos, parâmetros, orientações e metodologias analíticas**. 1. ed. 2015.
- AHMAD, M. Z. et al. Calcium hydroxide as an intracanal medication for postoperative pain during primary root canal therapy: A systematic review and meta-analysis with trial sequential analysis of randomized controlled trials. **Journal of Evidence Based Dental**, v. 22, n. 1, 2022.
- AHMED, H. M.A.; VERSIANI, M. A.; DE-DEUS, G.; et al. A new system for classifying root and root canal morphology. **International Endodontic Journal**, v. 50, n. 8, p. 761– 770, 2016.
- AJMI, N. F. A. et al. Microbial challenges and solutions in root canal therapy. **International Journal of Community Medicine and Public Health**, v. 11, n. 9, p. 3672-3676, 2024.
- AKCAY, M. et al. Effect of photon-initiated photoacoustic streaming, passive ultrasonic, and sonic irrigation techniques on dentinal tubule penetration of irrigation solution: a confocal microscopic study. **Clinical Oral Investigations**, v. 21, n. 7, p. 2205–2212, 2017.
- AL-ANI, E. et al. The effect of the source and the concentration of polymers on the release of chlorhexidine from mucoadhesive buccal tablets. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 27, n. 6, p. 756-766, 2019.
- AL-MANEI, K; AL-MANEI, K. K. Nonsurgical endodontic management of mandibular first premolar with incomplete root-end resection. **Clinical Case Reports**, v. 9, n. 1, p. 437–444, 2021.
- AMORIM, A. C et al. Comparison between the rotary (Hyflex EDM®) and manual (k- file) technique for instrumentation of primary molars: a 12-month randomized clinical follow-up study. **Journal of Applied Oral Science**, v. 30, p. 1–10. 2022.
- ANDREWS J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of Antimicrobials Chemotherapy**, v. 48, p. 5-16, 2001.
- ARIAS-MOLIZ, M. T. et al. Antimicrobial activity of Chlorhexidine, Peracetic acid, and Sodium hypochlorite/etidronate irrigant solutions against *Enterococcus faecalis* biofilms. **International Endodontic Journal**, v. 48, n. 12, p. 1188–1193, 2015.
- AROLA, D. et al. The tooth: its structure and properties. **Dental Clinics of North America**, v. 60, n. 4, p. 651-668, 2017.
- ASGARY, S; PARHIZKAR, A. Healing of Large Endodontic Lesions Using Long-Term Application of a New Combination of Triple Antibiotics: A Series of Cases. **Case Reports in Dentistry**, 2023.

ATENNA FOUNDATION, **Titration of active chlorine with sodium hypochlorite solution**, 2017.

BABEL L; BONNET-GÓMEZ S; FROMM K. M. Appropriate Buffers for Studying the Bioinorganic Chemistry of Silver. **Chemistry**, v. 2, p. 193 -202, 2020.

BACA, P. et al. Residual and antimicrobial activity of final irrigation protocols on enterococcus faecalis biofilm in dentin. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 3, p. 363–366, 2011.

BARDALES-ALCOCER, J. *et al.* Endodontic Retreatment Using Dynamic Navigation: A Case Report. **Journal of Endodontics**, v. 47, n. 6, p. 1007–1013, 2021.

BERGENHOLTZ, G. Assessment of treatment failure in endodontic therapy. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 43, n. 10, p. 753–758, 2016.

BHUVA, B. et al. The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms in extracted single-rooted human teeth. **International endodontic journal**, v. 43, p. 241-250, 2010.

BOUNDS, E. J.; KHAN, M.; KOK, S. J. Electrical Burns. **StatPearls Publishing**, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519514/>. Último acesso: 05 de maio de 2024.

BUCHANAN, G. D. *et al.* Resolution of Apical Periodontitis-induced Mental Nerve Paresthesia Through Nonsurgical Endodontic Retreatment: A Case Report. **Journal of Endodontics**, v. 49, n. 7, p. 920–924, 2023.

BUENO, C. et al. The Excited-State Interaction of Resazurin and Resorufin with Amines in Aqueous Solutions. Photophysics and Photochemical Reaction. **Photochemistry and Photobiology**, v. 76, n. 4, p. 385-390, 2002.

CARDOSO, L. R. et al. Effect of EDTA, sodium, and calcium hypochlorite on the inorganic component of root canal dentin: A SEM analysis. **Microscopy Research and Technique**, v. 82, n. 2, p. 1-6, 2018.

CAYO-ROJAS, C. F. et al. Cleaning of Endodontic Files with and without Enzymatic Detergent by Means of the Manual Method Versus the Ultrasonic Method: An Experimental Study. **Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry**, v.11, n.3, p. 307–315, 2021.

CHALLAGULLA, A. et al. Evaluation of root canal cleaning efficacy of selfadjusting files, protaper rotary, and manual K-Files in primary teeth - An In vitro Comparative study. **Indian Journal of Dental Research**, v. 34, n. 1, p. 65–68, 2023.

CHANDRA, R. et al. Biofilm forming capacity of *Enterococcus faecalis* on Gutta-percha points treated with four disinfectants using confocal scanning laser microscope: An in vitro study.

Dental Research Journal, v. 12, p. 331, 2015.

CHARACKLIS, W. G. Bioengineering report: Fouling biofilm development: A process analysis. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 23, n. 9, p. 1923–1960, 1981.

CHEN, H. et al. Combining with domiphen bromide restores colistin efficacy against colistin-resistant Gram-negative bacteria in vitro and in vivo. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 63, n. 2, 2024.

CHEN, J. et al. Living cells of *Staphylococcus aureus* immobilized onto the capillary surface in electrochromatography: A tool for screening of biofilms. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 13, p. 5103–5109, 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). M07: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 11th ed. Wayne, PA: CLSI, 2018.

COSTERTON, W. J et al. Microbial biofilms. **Annual Review of Microbiology**, v. 49, p. 711-745, 1995.

COUNCIL OF EUROPE PUBLISHING. **Active Ingredients Used in Cosmetics: safety survey**, 2008.

CUBAYACHI, C. et al. Needle-free buccal anesthesia using iontophoresis and amino amide salts combined in a mucoadhesive formulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 136, p. 1193–1201, 2015.

DAN, W. et al. Antibacterial quaternary ammonium agents: Chemical diversity and biological mechanism. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 243, 2022.

DEMIDOVA, T. N., HAMBLIN, M. R. Photodynamic therapy targeted to pathogens. **International journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 17, n. 3, p. 245 – 254, 2004.

DIOGUARDI, M. et al. Endodontic irrigants: Different methods to improve efficacy and related problems. **European Journal of Dentistry**, v. 12, n. 3, p. 459-466, 2018.

DIOGUARDI, M. et al. Inspection of the microbiota in endodontic lesions. **Dentistry Journal**, v. 7, n. 2, p. 1–15, 2019.

DIVITO, E., LLOYD, A. ER:YAG laser for 3-dimensional debridement of canal systems: use of photon-induced photoacoustic streaming. **Dentistry Today**, v. 31, n. 122, p.124 – 127, 2012.

DRUGBANK: Database for drug and drug target info (Canada); 2006. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00878>. Último acesso: 23 de setembro de 2025.

DU W. et al. Transcriptomics-based investigation of molecular mechanisms underlying synergistic antimicrobial effects of AgNPs and Domiphen on the human fungal pathogen

Aspergillus fumigatus. **Frontiers in Microbiology**, 14:1089267, 2023.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Guideline on bioanalytical method validation, 2015.

FARAJOLLAHI, M. *et al.* Application of an Endodontic Static Guide in Fiber Post Removal from a Compromised Tooth. **Case Reports in Dentistry**, p. 1–8, 2023.

FERRARI, C. **Manual de endodontia laboratorial**. 1. Ed. Porto Alegre: Simplíssimo, 2019.

FEDOROWICZ, J; SAŁCZEWSKI, J. Advances in the Synthesis of Biologically Active Quaternary Ammonium Compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 4649, 2024.

FROTA, M. F *et al.* Cleaning capacity promoted by motor-driven or manual instrumentation using ProTaper Universal system: Histological analysis. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 16, n. 1, p. 79–82, 2013.

GARBEROGLIO, R; BRANNSTROM, M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. **Archives of Oral Biology**, v. 21, p. 355–362, 1976.

GARCÍA E.E. *et al.* Antimicrobial Activity of a Cationic Guanidine Compound against Two Pathogenic Oral Bacteria. **International Journal of Microbiology**, v. 2017, 2017.

GERGOVA, R. T. *et al.* Antimicrobial activity of different disinfection methods against biofilms in root canals. **Journal of Investigative and Clinical Dentistry**, v. 7, n. 3, p. 254–262, 2016.

GLEDHILL, J. A.; MALAN, G. McP. The solubilities of sparingly soluble salts in water. Part 3 - the solubilities of silver chloride and silver bromide. **Transactions of the Faraday Society**, v. 50, 1953.

GRANDE, R., PUCA, V., MURARO, R., Antibiotic resistance and bacterial biofilm. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 30, n. 12, p. 897–900, 2020.

GRATIERI, T. *et al.* Iontophoretic transport kinetics of ketorolac in vitro and in vivo: Demonstrating local enhanced topical drug delivery to muscle. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 86, n. 2, p. 219–226, 2014.

GRATIERI T. **Sistemas de liberação ocular contendo fluconazol: obtenção, caracterização e liberação passiva e iontoforética in vitro e in vivo**. [São Paulo]: Universidade de São Paulo; 2010.

GRATIERI, T., GELFUSO, G, M., LOPEZ, R, F, V. Basic principles and applications of iontophoresis for cutaneous penetration of drugs. **Química Nova**, v. 31, n.6, p. 1490- 1498, 2008.

GRATIERI, T.; KALARIA, D.; KALIA, Y. N. Non-invasive iontophoretic delivery of peptides and proteins across the skin. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 8, n. 5, p. 645–663, 2011.

GREENSTEIN, G; BERMAN, C; JAFFIN, R. Chlorhexidine: An Adjunct to Periodontal Therapy. **Journal of Periodontology**, v. 57, n. 6, p. 370–377, 1986.

GUPTA, M.; PANDIT, I. K.; SRIVASTAVA, N. Comparative evaluation of 2% sodium fluoride iontophoresis and other cavity liners beneath silver amalgam restorations. **Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, v. 28, n. 2, p. 68– 72, 2010.

HAAPASALO, M. et al. Irrigation in endodontics. **British Dental Journal**, v. 216, p. 299–303, 2014.

HALLIDAY, D; RESNICK, R. **Fundamentos de física. Eletromagnetismo**. 10. Ed. LTC: Rio de Janeiro, 2010.

HÄRING M. et al. DNA-catalyzed Henry reaction in pure water and the striking influence of organic buffer systems. **Molecules**, v. 20, p. 4136–4147, 2015.

HEDBERG Y. S; WALLINDER, I. O. Metal release from stainless steel in biological environments: A review. **Biointerphases**, v. 11, n. 1, 2016.

HU, L. et al. Transdermal and transbuccal drug delivery systems: Enhancement using iontophoretic and chemical approaches. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 421, n.1, p. 53–62, 2011.

HUYNH, T. T. N. et al. Characterization of a polyurethane-based controlled release system for local delivery of chlorhexidine diacetate. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 74, n. 2, p. 255-264, 2010.

IONESCU, A., HARRIS, D., SELVAGANAPATHY, P.R., KISHEN, A. Electrokinetic transport and distribution of antibacterial nanoparticles for endodontic disinfection. **International Endodontic Journal**, v. 53, p. 1120–1130, 2020.

JOHNSON, P. et al. A Pulsed Electric Field Enhances Cutaneous Delivery of Methylene Blue in Excised Full-Thickness Porcine Skin. **The journal of investigative dermatology**, v. 3, 1998.

JUD, C. et al. Dentinal tubules revealed with X-ray tensor tomography. **Dental Materials**, v. 32, n. 9, p. 1189–1195, 2016.

KALIA, Y. N. et al. Iontophoretic drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n.5, p. 619–658, 2004.

KARAMIFAR, K.; TONDARI, A. A maxillary second premolar with four canals: A case report. **Iranian Endodontic Journal**, v. 16, n. 2, p. 127–130, 2021.

KAUSHAL, R., BANSAL, R., MALHAN, S. A comparative evaluation of smear layer removal by using ethylenediamine tetraacetic acid, citric acid, and maleic acid as root canal irrigants: An in vitro scanning electron microscopic study. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 23, n.

1, p. 71-78, 2020.

KHOURY, R. D. et al. Endodontic irrigants from a comprehensive perspective. **World Journal of Clinical Cases**, v. 12, n. 21, p. 4460–4468, 2024.

KOSARIEH, E. et al. Effect of Er:YAG laser irradiation using SWEEPS and PIPS technique on dye penetration depth after root canal preparation. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 33, 2021.

KULL, F. C. et al. Mixtures of Quaternary Ammonium Compounds and Long-chain Fatty Acids as Antifungal Agents. **Applied Microbiology**, v. 9, n. 6, p. 538–541, 1961.

KUMAR, S. et al. Iontophoresis and Topical Application of 8% Arginine-calcium Carbonate to Treat Dentinal Hypersensitivity. **Nigerian Journal of Clinical Practice**, v. 21, n. 8, p. 1029–1033, 2018.

LEBER, A. L. **Clinical Microbiology Procedures Handbook**. Washington, DC: ASM Press, 2016.

LEVIN, L. G. et al. Identify and Define All Diagnostic Terms for Pulpal Health and Disease States. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 12, p. 1645–1657, 2009.

LIANG, Yuhong; YUE, Lin. Evolution and development: engine-driven endodontic rotary nickel-titanium instruments. **International Journal of Oral Science**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 2022.

LOUKIL, N; BEN FRAJ, B. Corrosion behavior of aged NiTi shape memory alloys. **Intermetallics**, v. 179, 2025.

MAHAMUNI-BADIGER, P. P et al. Biofilm formation to inhibition: Role of zinc oxide- based nanoparticles. **Materials Science and Engineering**, v. 108, 2020.

MAIA, L. M. et al. Guided endodontics in nonsurgical retreatment of a mandibular first molar: A new approach and case report. **Iranian Endodontic Journal**, v. 15, n. 2, p. 111– 116, 2020.

MALKHASSIAN, G. et al. Antibacterial Efficacy of MTAD Final Rinse and Two Percent Chlorhexidine Gel Medication in Teeth with Apical Periodontitis: A Randomized Double-blinded Clinical Trial. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 11, p. 1483–1490, 2009.

MALU, K. KHUBCHANDANI, M. Triple Antibiotic Paste: A Suitable Medicament for Intracanal Disinfection. **Cureus**, v. 14, n. 9, 2022.

MAZZI-CHAVES, J. et al. Micro-computed tomographic assessment of the variability and morphological features of root canal system and their ramifications. **Journal of Applied Oral Science**, v. 28, p. 1–10, 2020.

MAZZONI, A. et al. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. **Journal of Dental Research**, v. 94, n. 2, p. 241–251, 2015.

MIRA, P., YEH, P., HALL, B. G. Estimating microbial population data from optical density.

Plos One, v. 17, n. 10, p. 1–8, 2022.

MIRANDA, T. C. et al. Novel technologies to improve the treatment of endodontic microbial infections: Inputs from a drug delivery perspective. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 635, 2023.

MISHRA, P. et al. Effect of loading and pH on the subsurface demineralization of dentin beams. **Calcified Tissue International**, v. 79, n. 4, p. 273–277, 2006.

MOHAMMADI, Z., DUMMER, P.M.H. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology: Calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. **International Endodontic Journal**, v. 44, n. 8, p. 697–730, 2011.

MOHAMMADI, Z; ABBOTT, P. V. Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: A review. **Australian Endodontic Journal**, v. 35, n. 3, p. 131–139, 2009.

NAGATA, J. Y. et al. Single-session endodontic treatment is a reality in low-income areas in Brazil? **Journal of Contemporary Dental Practice**, v. 21, n. 6, p. 657–665, 2020.

NANCI, A. **Ten Cate's Oral Histology**. 9. Ed. St Louis, Missouri: Elsevier, 2018.

NEELAKANTAN, P. et al. Biofilms in Endodontics—Current status and future directions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 8, p. 1-21, 2017.

NOGUEIRA, B. C. L. et al. Benchmarking of the ultrastructure and physical properties of bovine, buffalo, and human enamel. **Brazilian Journal of Veterinary Research**, v. 34, n. 5, p. 485–490, 2014.

NORTON, S. N; NETTER, F. H. **Netter's head and neck anatomy for Dentistry**, 3. Ed. Elsevier Saunders, 2016.

O'HAGAN-WONG, K. et al. The use of hydroxyapatite toothpaste to prevent dental caries. **Odontology**, v. 110, n. 2, p. 223–230, 2022.

ONG, T. K. Non-Surgical Retreatment After Failed Intentional Replantation: A Case Report. **European Endodontic Journal**, v. 4, n. 3, p. 145–149, 2019.

ORDINOLA-ZAPATA, R. et al. Biofilm removal by 6% sodium hypochlorite activated by different irrigation techniques. **International endodontic journal**, v. 47, n. 7, p. 659-666, 2014.

PANAGAKOS, F; SCHIFF, T; GUIGNON, A. Dentin hypersensitivity: Effective treatment with an in-office desensitizing paste containing 8% arginine and calcium carbonate. **American Journal of Dentistry**, v. 22, Special Issue A, 2009.

PANCHAGNULA R. et al. Transdermal Iontophoresis. **Current Opinion in Chemical Biology**, p. 468–473, 2000.

- PARREIRA, H. C. The isoelectric point of human dental tissues. **Colloids and Surfaces**, v. 2, p. 189-192, 1981.
- PASHLEY, E. L. et al. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. **Journal of Endodontics**, v. 11, n. 12, p. 525–528, 1985.
- PATEL, N. et al. Mental Nerve Paraesthesia: A Report of Two Cases Associated with Endodontic Etiology. **Case Reports in Dentistry**, p. 1–8, 2021.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN J. R. **Introdução à espectroscopia. Tradução da 4ª edição norte-americana**. 4. Ed. EUA: Cengage Learning, 2010.
- PEREIRA, T. C. et al. Intratubular decontamination ability and physicochemical properties of calcium hydroxide pastes. **Clinical Oral Investigations**, v. 23, n. 3, p. 1253–1262, 2018.
- PEREZ, C.; FINELLE, G.; COUVRECHEL, C. Optimisation of a guided endodontics protocol for removal of fibre-reinforced posts. **Australian Endodontic Journal**, v. 46, n. 1, p. 107–114, 2020.
- PETERS, O. A., et al. Disinfection of Root Canals with Photon-initiated Photoacoustic Streaming. **Journal of Endodontics**, v. 37, p. 1008–1012. 2011.
- PIRANI, C.; CAMILLERI, J.; Effectiveness of root canal filling materials and techniques for treatment of apical periodontitis: A systematic review. **International Endodontic Journal**, v. 56, n. S3, p. 436–454, 2023.
- PISKIN, B.; TÜRKÜN, M. Stability of Various Sodium Hypochlorite Solutions. **Journal of Endodontics**, v. 21, n. 5, p. 11–13, 1995.
- POZOS-GUILLEN, A. et al. Intracanal irrigants for pulpectomy in primary teeth: a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 26, n. 6, p. 412–425, 2016.
- PRADA, I. et al. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v. 24, n. 3, p. e364–e372, 2019.
- PRADO, M. do. **Endodontia: princípios para prática clínica**. 1. Ed. Rio de Janeiro: MedBook, 2017.
- PRIYADARSHINI, B. M. et al. Characterization of chlorhexidine-loaded calcium-hydroxide microparticles as a potential dental pulp-capping material. **Bioengineering**, v. 4, n. 3, p. 1-25, 2017.
- PUBCHEM: National Library of Medicine (US); 2004. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/1405>. Último acesso: 17 de setembro de 2023.

PUBCHEM: National Library of Medicine (US); 2004. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3676>. Último acesso: 17 de agosto de 2024.

QIANG, Z. K., ZHI, Y. X. Z. Z. Consensus recommendations from Chinese experts on the standard operation procedure of dental operative microscope in endodontics and operative dentistry. **Society of Cariology and Endodontology, Chinese Stomatological Association**, v. 55, n. 5, p. 333 – 336. 2020.

RAVINANTHANAN, M. et al. A Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Novel Surfactant-Based Endodontic Irrigant Regimen's on *Enterococcus faecalis*. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 13, n. 3, p. 205–210, 2022.

RICUCCI, D.; LOGHIN, S.; SIQUEIRA, J. F. Correlation between clinical and histologic pulp diagnoses. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 12, p. 1932–1939, 2014.

RISTIVOJEVIĆ, P. et al. Profiling of Turkish propolis subtypes: Comparative evaluation of their phytochemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities. **LWT**, v. 95, p. 367–379, 2018.

RIYAH, A. M.; SAAD, A. Y. Lower lip paresthesia as a sequel of mental nerve irritation secondary to periradicular periodontitis. **Saudi Endodontic Journal**, v. 8, n. 1, p. 55–57, 2018.

ROZAINAH, N. A. G. N.; FARAH, A. N.; KAROBARI, M. I.. Management of Discolored Failure Root Canal-Treated Upper Lateral Incisor. **Case Reports in Dentistry**, p. 1–6, 2020.

RUKSAKIET, K. et al. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root Canal Disinfection: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. **Journal of Endodontics**, v. 46, n. 8, p. 1032-1041.e7, 2020.

RYKKE, M. et al. Protein adsorption to hydroxyapatite and to calcium fluoride in vitro and amino acid analyses of pellicle formed on normal enamel and on calcium-fluoride- covered enamel in vivo. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 47, n. 4, p. 245–251, 1989.

SÁ F.A.P de. **Desenvolvimento e caracterização de lipossomas mucoadesivos para liberação ocular de fármacos**. [Brasília]: Universidade de Brasília; 2015.

SAKKO, M; TJÄDERHANE, L; RAUTEMAA-RICHARDSON, R. Microbiology of root canal infections. **Primary Dental Journal**, v. 5, n. 2, p. 84–89, 2016.

SAMIEI, M. et al. The antibacterial efficacy of photo-activated disinfection, chlorhexidine and sodium hypochlorite in infected root canals: An in Vitro study. **Iranian Endodontic Journal**, v. 11, n. 3, p. 179–183, 2016.

SANDROLINI, L. Calculation of the currents generated in dental tissues by the application of

an external electric field. **Progress In Electromagnetics Research Letters**, v. 42, p. 141-154, 2013.

SANTANA N. M. C. et al. Development of Chlorhexidine Digluconate and Lippia sidoides Essential Oil Loaded in Microemulsion for Disinfection of Dental Root Canals: Substantivity Profile and Antimicrobial Activity. **AAPS PharmSciTech**, v. 21, n. 8, p. 1-11, 2020.

SANTOS, J. M. et al. Influence of Preoperative Pulp Inflammation in the Outcome of Full Pulpotomy Using a Dog Model. **Journal of Endodontics**, v. 47, n. 9, p. 1417–1426, 2021.

SARRAF, P. et al. An odontogenic cutaneous sinus tract in an unusual site with multiple misdiagnoses. **Clinical case reports**, v. 11, n. 10, 2023.

SHORE, J. D.; PERCHAK, D.; SHNIDMAN, Y. Simulations of the nucleation of AgBr from solution. **The Journal of Chemical Physics**, v. 113, 2000.

SIQUEIRA J. F.; RÔÇAS I. N. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. **International Endodontic Journal**, v. 3, p. 512-530, 2022.

SIQUEIRA, J. F. et al. Causes and management of post-treatment apical periodontitis. **British Dental Journal**, v. 216, n. 6, p. 305–312, 2014.

SOLTAN A. A. M. et al. Examination of the Corrosion Behavior of Shape Memory NiTi Material for Biomedical Applications. **Materials**, v. 16, p. 1-20, 2023.

SOUZA, L. C. et al. Photodynamic Therapy with Two Different Photosensitizers as a Supplement to Instrumentation/Irrigation Procedures in Promoting Intracanal Reduction of *Enterococcus faecalis*. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 2, p. 292–296, 2010.

SURESH, C. et al. Awareness about the significance of acid-base balance of saliva in maintaining oral health. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research**, v. 13, n. 5, p. S325–S329, 2022.

TADOLINI B. Iron Autoxidation in Mops and Hepes Buffers. **Free radical research communications**, v. 4, n. 3, p. 149-160, 1987.

TALAPKO, J. et al. Antibacterial Activity of Silver and Its Application in Dentistry, Cardiology and Dermatology. **Microorganisms**, v. 8, p. 1 – 13, 2020.

TITS, J. et al. Combination of Miconazole and Domiphen Bromide is fungicidal against biofilms of resistant *Candida* spp. **American Society for Microbiology**, v. 64, n. 10, 2020.

TOMSON, R. M.E.; POLYCARPOU, N.; TOMSON, P. L. Contemporary obturation of the root canal system. **British Dental Journal**, v. 216, n. 6, p. 315–322, 2014.

TONINI, R. et al. Irrigating Solutions and Activation Methods Used in Clinical Endodontics: A Systematic Review. **Frontiers in Oral Health**, v. 3, p. 1–13, 2022.

TSE, C. C. M., CHEUNG, S. P. G. Spatial Cleaning Action of Ultrasonic Irrigation on

Enterococcus faecalis Biofilm. **Dentistry journal**, v. 8, n. 42, p. 1 – 12, 2020.

URBAN, K. et al. Canal cleanliness using different irrigation activation systems: a SEM evaluation. **Clinical Oral Investigations**, v. 21, n. 9, p. 2681–2687, 2017.

VERTUCCI, F. J. Root canal morphology and its relationship to endodontic procedures. **Endodontic Topics**, v. 10, n. 1, p. 3–29, 2005.

VERTUCCI, F; SEELIG, A; GILLIS, R. Root canal morphology of the human maxillary second premolar. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 38, n. 3, p. 456– 464, 1974.

WANASATHOP, A.; KEVIN L. S. Iontophoretic drug delivery in the oral cavity. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 3, p. 1–17, 2018.

XU, X. et al. Hydrophilic interaction liquid chromatography method development and validation for the assay of HEPES zwitterionic buffer. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 2016.

YAMAGUCHI, M. et al. Factors that cause endodontic failures in general practices in Japan. **BMC Oral Health**, v. 18, n. 1, p. 1–5, 2018.

YAN, Y. *et al.* Potential apply of hydrogel-carried chlorhexidine and metronidazole in root canal disinfection. **Dental Materials Journal**, v. 40, n. 4, p. 986–993, 2021.

YANG H. et al. In vitro and in vivo antimicrobial effects of domiphen combined with itraconazole against *Aspergillus fumigatus*. **Frontiers in Microbiology**, 21:14:1264586, 2023.

YIN, I. X. et al. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 2555–2562, 2020.

YU, C.; ABBOTT, P. V. An overview of the dental pulp: Its functions and responses to injury. **Australian Dental Journal**, v. 52, n. 1 SUPPL., p. S4–S16, 2007.

ZEMAITIS, M. R.; FORIS, L. A.; LOPEZ, R. A.; HUECKER, M. R. Electrical Injuries. **StatPearls Publishing**, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448087/>. Último acesso: 05 de maio de 2024.

ANEXO I

Produtos científicos e tecnológicos decorrentes desta pesquisa de doutorado.

Journal of Dentistry 141 (2024) 104797



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Dentistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jdent



Short communication

Iontophoresis use for increasing drug penetration into root canals and dentinal tubules: A proof-of-concept study

Thamires C. Miranda^a, Laudimar A. Oliveira^b, Leandro A. Hilgert^b, Marcilio Cunha-Filho^a,
Guilherme M. Gelfuso^a, Tais Gratieri^{a,*}

^a Laboratory of Food, Drugs, and Cosmetics (LTMAC), University of Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil

^b Department of Dentistry, Faculty of Health Sciences, University of Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil



ARTICLE INFO

Keywords:

Root canals
Dentinal tubules
Iontophoresis
Methylene blue
Endodontics

ABSTRACT

Introduction: The success of endodontic treatment depends on the significant disinfection of the root canal system, its irregularities, and dentinal tubules. However, achieving complete disinfection remains challenging, with frequent failures and occurrence of secondary infections. Here, we propose using iontophoresis to increase the penetration and distribution of disinfecting agents into root canals, using methylene blue for proof-of-concept. **Methods:** The marker was applied in bovine root canals, and the radial distribution of the dye in the dentinal tubules was evaluated by optical microscopy. Iontophoresis was applied at 0.5 and 1.5 mA for 5 and 15 min. **Results:** A significant statistical difference ($p < 0.05$) was observed in the marker penetration between passive and iontophoretic applications. Both current density and application time had an important effect on methylene blue distribution, with a greater efficacy delivery to the apical region achieved after 1.5 mA for 5 min or 0.5 mA for 15 min, showing longer application time can compensate for lower application current. **Conclusion:** Iontophoresis increases the penetration and distribution of methylene blue into bovine root canals and dentinal tubules, including its innermost portions. **Clinical significance:** Iontophoresis has shown to be a promising technique for root canal and dentinal tubule disinfection.

International Journal of Pharmaceutics 635 (2023) 122794



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Pharmaceutics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijpharm



Novel technologies to improve the treatment of endodontic microbial infections: Inputs from a drug delivery perspective

Thamires C. Miranda^a, Jayanaraian F.M. Andrade^a, Guilherme M. Gelfuso^a,
Marcilio Cunha-Filho^a, Laudimar A. Oliveira^b, Tais Gratieri^{a,*}

^a Laboratory of Food, Drugs, and Cosmetics (LTMAC), University of Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil

^b Department of Dentistry, Faculty of Health Sciences, University of Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil



ARTICLE INFO

Keywords:

Bacterial biofilm
Drug delivery
Endodontic infections
Iontophoresis
Laser
Photodynamic therapy
Ultrasound

ABSTRACT

Endodontic microbial infections are still a challenge for an effective treatment for being biofilm-mediated and very refractory to conventional therapies. Biomechanical preparation and chemical irrigants cannot fully eradicate biofilms due to the anatomic structure of the root canal system. Instruments employed in biomechanical preparation and irrigants solution cannot reach the narrow and deepest portion of root canals, especially the apical thirds. In addition, aside from the dentin surface, biofilms can also infiltrate dentine tubules and periapical tissues, compromising treatment success. Therefore, different technologies have been investigated to achieve a more effective outcome in the control of endodontic infections. However, these technologies continue to face great difficulties in reaching the apical region and eradicating biofilms to avoid the recurrence of infection. Here, we present an overview of the fundamentals of endodontics infections and review technologies currently available for root canal treatment. We discuss them from a drug delivery perspective, highlighting each technology's strength to envision the best use of these technologies.



Iontophoresis application for drug delivery in high resistivity membranes: nails and teeth

Jayanaraian F. Martins Andrade¹ · Thamires da Cunha Miranda¹ · Marcílio Cunha-Filho¹ · Stephânia Fleury Taveira² · Guilherme M. Gelfuso¹  · Tais Gratieri¹

Accepted: 22 September 2022
© Controlled Release Society 2022

Abstract

Iontophoresis has been vastly explored to improve drug permeation, mainly for transdermal delivery. Despite the skin's electrical resistance and barrier properties, it has a relatively high aqueous content and is permeable to many drugs. In contrast, nails and teeth are accessible structures for target drug delivery but possess low water content compared to the skin and impose significant barriers to drug permeation. Common diseases of these sites, such as nail onychomycosis and endodontic microbial infections that reach inaccessible regions for mechanical removal, often depend on time-consuming and ineffective treatments relying on drug's passive permeation. Iontophoresis application in nail and teeth structures may be a safe and effective way to improve drug transport across the nail and drug distribution through dental structures, making treatments more effective and comfortable for patients. Here, we provide an overview of iontophoresis applications in these "hard tissues," considering specificities such as their high electrical resistivity. Iontophoresis presents a promising option to enhance drug permeation through the nail and dental tissues, and further developments in these areas could lead to widespread clinical use.



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
Ministério do Desenvolvimento, Indústria, Comércio e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial
Diretoria de Marcas, Desenhos Industriais e Indicações Geográficas

Certificado de Registro de Desenho Industrial

Processo nº: BR302024000043-0

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede, automaticamente, sem exame de mérito, o presente CERTIFICADO DE REGISTRO, que outorga ao seu titular propriedade do desenho industrial discriminado neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dele decorrentes, previstos na legislação em vigor.

A proteção conferida pelo registro de desenho industrial, em conformidade com o que estabelece o art. 95 da Lei 9.279/96, é definida exclusivamente a partir da configuração da forma plástica ornamental do objeto ou do conjunto ornamental de linhas e cores requeridos.

A vigência deste registro é de 10 (dez) anos, a contar da data de depósito, mediante o recolhimento da taxa quinquenal de manutenção (Artigos 108 e 120 da LPI) e observadas as demais condições legais.

Data de depósito: 09/01/2024
Data da concessão: 08/04/2025
Fim da vigência: 09/01/2034
Titular: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA [BR/DF]
Endereço: CENTRO DE APOIO AO DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO -
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, CAMPUS UNIVERSITÁRIO
DARCY RIBEIRO, EDIFÍCIO CDT, ASA NORTE, 70904-970,
Brasília, DISTRITO FEDERAL, BRASIL
Autor: TAIS GRATIERI[BR], JACY RIBEIRO DE CARVALHO
JUNIOR[BR], GUILHERME MARTINS GELFUSO[BR], MARCÍLIO
SÉRGIO SOARES DA CUNHA FILHO[BR] e THAMIRES DA
CUNHA MIRANDA[BR]
Título: DISPOSITIVO PARA APLICAÇÃO DE IONTOFORESE
DENTÁRIA

Rio de Janeiro, 09/04/2025

Schmuell Lopes Cantanhêde
Diretor



Assinado digitalmente pelo INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE
INDUSTRIAL:42521088000137
Em 09/04/2025