

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

Larissa Taís Soligo

**EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DE
DIFERENTES SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS
AUXILIARES ASSOCIADAS A DIFERENTES
TÉCNICAS DE PREPARO DO CANAL
RADICULAR**

Passo Fundo

2017

Larissa Taís Soligo

**EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DE
DIFERENTES SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS
AUXILIARES ASSOCIADAS A DIFERENTES
TÉCNICAS DE PREPARO DO CANAL
RADICULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da UPF, para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Clínica Odontológica, sob orientação do prof. Dr. Douglas Cecchin.

Passo Fundo

2017

Folha reservada para
Ata de aprovação da Banca Examinadora

Observação:

Mantenha esta página no seu arquivo, imprimindo-a.
Após, faça a substituição pela Ata de aprovação fornecida pela
Secretaria para manter a correta numeração do seu trabalho.

Folha reservada para
Ficha catalográfica

Observação:

Mantenha esta página no seu arquivo, imprimindo-a.
Após, faça a substituição pela Ficha Catalográfica fornecida pela
Secretaria para manter a correta numeração do seu trabalho.

BIOGRAFIA

Larissa Taís Soligo nasceu em 29 de novembro de 1988, na cidade de Campinas do Sul, Rio Grande do Sul.

Em 2007 ingressou na Faculdade de Odontologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina, Campus Joaçaba – SC. Colou grau em 2011 e está registrada no CRO-RS sob o número 21061. Em 2013 concluiu a Especialização em Endodontia no Centro de Estudos Odontológicos Meridional – CEOM, Passo Fundo, RS. No período de 2011 e 2014 atuou como Cirurgiã-dentista em consultórios particulares de amigos. Entre 2013 e 2015 foi funcionária da SESAI – Secretaria Especial de Saúde Indígena, como Cirurgiã-dentista 20 horas, na Área Indígena Ventarra, que pertence ao município de Erebangó – RS. Em 2014 inaugurou seu Consultório Odontológico no município de Getúlio Vargas, RS, onde atua até hoje. No ano de 2015 ingressou no Mestrado em Odontologia na Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo.

No ano de 2016 foi professora na disciplina de Anatomia Bucofacial e professora auxiliar das disciplinas em aulas práticas, do Curso de Odontologia da Faculdade IDEAU – Getúlio Vargas, RS. Trabalhou como Endodontista no CEO – Centro de Especialidades Odontológicas e atualmente trabalha em seu Consultório particular na cidade de Getúlio Vargas, RS, onde reside atualmente.

DEDICATÓRIA

A realização de um sonho de infância só foi possível devido à luta e persistência dos meus amados pais **Luiz** e **Marisa**. No decorrer dessa vida, eles me proporcionaram carinho, amor, confiança, conhecimento da perseverança e principalmente da fé. A minha formação profissional e o meu desenvolvimento como ser humano tem como suporte a família que somos!

Por essa razão, dedico este trabalho a vocês, juntamente com minha eterna gratidão!

AGRADECIMENTOS

Em todos os momentos de nossa vida devemos agradecer os obstáculos ultrapassados, as vitórias alcançadas e a vida que Deus nos deu. Neste momento aproveito a oportunidade para agradecer todas as pessoas que me ajudaram e me apoiaram de alguma forma na execução desta monografia.

Á **Deus**, principal responsável pela realização deste e de todos os demais trabalhos que chegaram ao final em minha vida, pelos que ainda estão por vir, e por ter me abençoado com a profissão de Cirurgiã Dentista.

Aos meus pais, **Luiz** e **Marisa**: sou grata pela formação recebida, por todo o amor que me dedicaram, pela ajuda e torcida incondicional em tudo o que fiz, pela construção de valores que me proporcionaram, por mostrar que tudo na vida pode passar, mas que o amor que une nossa família é mais forte do que tudo. Vocês são meu exemplo de vida e meu alicerce de sustentação. Tenho orgulho de ser sua filha. Amo muito vocês.

Ao meu irmão **Paulo Henrique**: você é o meu presente de Deus... É maravilhoso ver você crescer não só em tamanho, mas como pessoa. É bom ter você junto comigo em mais uma conquista. Obrigada pela ajuda e apoio neste trabalho. Amo você!

Ao meu namorado **Charles**: A você que esteve do meu lado ans horas que chorei e nas horas que sorri, agradeço pelo carinho, paciência e por me proporcionar tranquilidade na correria de cada semestre. Amo você!

Agradeço **as dificuldades** que encontrei no decorrer desses dois anos. Elas foram grandes adversárias, mas me mostraram as pessoas maravilhosas que caminham ao meu lado.

Ao meu orientador Professor **Dr. Douglas Cecchin**, pelo crescente estímulo, pelos ensinamentos transmitidos ao longo deste aprendizado, e pela sua orientação e colaboração para que este trabalho resultasse em sucesso.

Obrigada aos companheiros de mestrado, **Bárbara, Cristiano, Denise, Huriel, Júlia, Lourenço, Mauren, Rodrigo e Suzane**, por todos os momentos juntos, pelas conversas, por todos os ensinamentos que compartilhamos durante estes dois anos. A todos que direta ou indiretamente estiveram comigo e compartilharam as emoções, alegrias, sorrisos, tristezas, angústias e até desespero, muito obrigada por estarem ao meu lado!

Um agradecimento especial as minhas amigas **Mauren e Suzane**, por compartilharem angústias e incertezas, por me apoiarem a tomar decisões importantes na minha vida. Jamais esquecerei o apoio nesse último semestre de mestrado. Amigas que ficarão guardadas pra sempre no meu peito!

Aos colegas **Huriel**, pela paciência e por esclarecer as dúvidas no decorrer da pesquisa, ao Ezequiel e a **Ediléia**, por auxiliar na execução das atividades e pela compreensão nos momentos difíceis.

Aos **professores da PPGOdonto**, por me conduzirem nos caminhos do saber e do fazer, me tornando profissional experiente, conhecedora da minha especialidade, segura de meus atos profissionais. Além da minha paixão pela Odontologia, vocês me mostraram o que é ser mediador de conhecimento, intensificando ainda mais meu interesse pela profissão. A palavra mestre, nunca fará justiça aos *professores* dedicados, aos quais, sem nominar, terão os meus eternos agradecimentos.

A **Universidade de Passo Fundo**, direção e funcionários da PPGOdonto, por estarem sempre dispostos a nos ajudar, em promover o nosso bem estar e pelo carinho dedicado a todos que lá frequentam.

As funcionárias do laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo, **Eli** e **Fernanda**, pela paciência, compreensão e ajuda durante o desenvolvimento das atividades, com muito profissionalismo e carinho, para que a pesquisa transcorresse da melhor forma possível. Foram momentos difíceis e cansativos, mas que no fim valeu a pena.

Um agradecimento especial a minha secretária **Elidiane**, pela ajuda no decorrer desses dois anos, e pela paciência e compreensão.

SUMÁRIO

BIOGRAFIA.....	v
DEDICATÓRIA	vi
AGRADECIMENTOS.....	vii
SUMÁRIO	x
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	xiii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE FIGURAS.....	xv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xvi
LISTA DE SÍMBOLOS	18
1. INTRODUÇÃO	24
2. REVISÃO DE LITERATURA	30
2.1 Microbiota endodôntica	30
2.1 Anatomia dos canais radiculares.....	32
2.3 <i>Enterococcus faecalis</i>	33
2.4 Instrumentos Endodônticos.....	40
2.4.1 Instrumentos Rotatórios	455
2.4.2 Instrumentos Reciprocantes	53
2.5 Substâncias Químicas Auxiliares	65
2.5.1. Hipoclorito de Sódio	67
2.5.2 Hipoclorito de Cálcio	76
2.5.3 Extrato de Semente de Uva	84
3. PROPOSIÇÃO.....	94

3.1	Objetivo Geral	94
3.2	Objetivos Específicos	94
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	96
4.1	Delineamento do estudo	96
4.2	Estudo piloto	97
4.2.1	Preparo do Inóculo	98
4.2.2	Preparação das substâncias	98
4.2.3	Semeadura em Placas	99
4.2.4	Aplicação dos Discos	99
4.2.5	Avaliação Microbiológica	100
4.3	Análise de técnicas e substâncias utilizadas para o preparo químico- mecânico dos canais radiculares	102
4.3.1	Seleção dos dentes	102
4.3.2	Micro-organismo	103
4.3.3	Meio de cultura	103
4.3.4	Soluções Químicas Auxiliares	104
4.3.5	Instrumentos	105
4.4	Métodos	105
4.4.1	Preparo das raízes	105
4.4.2	Controle de esterilização	108
4.4.3	Preparação das Bactérias e Contaminação	108
4.4.4	Análise Microbiológica Inicial	110
4.4.5	Divisão dos grupos	114
4.4.6	Análise Microbiológica Final	115
4.4	Análise Estatística	116
5.	RESULTADOS	117
6.	DISCUSSÃO	120
7.	CONCLUSÕES	135

REFERÊNCIAS.....	136
APÊNDICES.....	158
APÊNDICE 1.....	159
APÊNDICE 2.....	162
APÊNDICE 3.....	170

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Histograma 1	Testes de Normalidade do Estudo Piloto para a Solução Química Auxiliares	167
Histograma 2	Testes de Normalidade da análise de técnicas e substâncias utilizadas para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares	176

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Redução de <i>Enterococcus faecalis</i> pela técnica de disco difusão em ágar através do método do contato direto (n = 10)	117
Tabela 2	Avaliação da redução de <i>Enterococcus faecalis</i> através de técnicas e substâncias utilizadas para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares (n = 11)	119
Tabela 3	Testes de Normalidade do Estudo Piloto para a Solução Química Auxiliares	162
Tabela 4	Testes de Normalidade da análise de técnicas e substâncias utilizadas para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares	170

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Comparação ProTaper Universal e ProTaper Next	46
Figura 2	ProTaper Next	47
Figura 3	Secção transversal em forma de “S” do instrumento Reciproc	56
Figura 4	Discos Brancos esterilizados por autoclavação	97
Figura 5	Posição das placas de petri invertida, contendo os discos de antibiograma, dentro da estufa bacteriológica	100
Figura 6	Análise dos halos de inibição formados ao redor dos discos de antibiograma contendo soluções irrigadoras	101
Figura 7	Método de avaliação da curvatura das raízes	103
Figura 8	Apresentação Comercial das Soluções Químicas Auxiliares	104
Figura 9	Preparo das raízes	107
Figura 10	Preparação e Contaminação das Raízes	110
Figura 11	Solução homogeneizada e diluída em série até 10^{-4} . 75 μ L para realizar a semeadura	112
Figura 12	Análise Microbiológica dos canais radiculares	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC – American Type Culture Collection
BHI – Brain Heart Infusion Broth
Ca(ClO)₂ – Hipoclorito de Cálcio
CHX - Clorexidina
CT – comprimento de trabalho
EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético
E. faecalis – *Enterococcus faecalis*
ESU – Extrato de Semente de Uva
et al. – Colaboradores
G - Grupo
HOCl - Ácido hipocloroso
ISO – International Organization for Standardization
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
min – minutos
mL – mililitros
mm – milímetros
n – número
NaOCl – Hipoclorito de Sódio
NiTi – níquel-titânio
PAs – Protoancinidinas
PCA - Ágar padrão para contagem
Rpm – Rotações por minuto

s – segundos

SAF – Self Adjusting File

SPSS – Statistical Package for the Social Sciences

TCCB – Tomografia Computadorizada de Imagem

UFCs – Unidades formadoras de colônias

μ L - microlitro

LISTA DE SÍMBOLOS

% – porcentagem

– diâmetro

/ – *taper*

°C – graus Celsius

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a redução microbiana utilizando diferentes substâncias químicas auxiliares associadas a diferentes técnicas de preparo dos canais radiculares. Realizou-se um estudo piloto avaliando a atividade antimicrobiana do Extrato de Semente de Uva (ESU) nas concentrações de 10%, 30% e 50%, Hipoclorito de Sódio (NaOCl) 6%, e Hipoclorito de Cálcio (Ca(ClO)₂) 2,5% e 6%, pela técnica de discos de antibiograma por meios do contato direto em ágar, para determinar a concentração de ESU a ser utilizada no próximo estudo. Todas as concentrações de ESU resultaram nos menores halos de inibição dentre as substâncias ativas. Por isso, utilizou-se ESU 50%, por apresentar melhor efetividade entre concentrações testadas. Após, foram obtidas 88 raízes de molares inferiores padronizadas em 15 mm de comprimento. *E. faecalis* (ATCC 19433), foi preparado em caldo de BHI e introduzido 100 µL da cultura nas raízes, repetindo o procedimento a cada 48 horas para renovação do meio de cultura durante 21 dias. As raízes foram divididas aleatoriamente em 8 grupos (n = 11) de acordo com a substância química auxiliar utilizada: NaOCl 6%, Ca(ClO)₂ 6%, ESU 50%, e Soro Fisiológico 0,9% (grupo controle). Para cada substância utilizou-se duas técnicas de preparo: ProTaper Next X1 e X2 e Reciproc R25. A avaliação da desinfecção dos diferentes sistemas

e substâncias foi realizada por meio da contagem de UFCs antes e após os tratamentos. Para a análise estatística realizada foi utilizado o teste de ANOVA seguido pelo teste complementar de Tukey ($\alpha = 0.05$). Os resultados obtidos revelaram não haver diferença estatisticamente significativa entre as substâncias ativas ($p > 0,05$), as quais foram superiores ao grupo controle ($p < 0,05$). Entre as técnicas de preparo também foi observado semelhança estatística ($p > 0,05$). De acordo com os resultados, pode-se concluir que o $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 6% e o ESU 50% apresentam capacidade antimicrobiana similar ao NaOCl, assim como a técnica utilizando Protaper Next foi semelhante à técnica com Reciproc.

Palavras-chave: movimento recíprocante, movimento rotatório, hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio, extrato de semente de uva.

ABSTRACT¹

The aim objective of this study is to evaluate microbial reduction using different chemical auxiliary chemicals associated with different root canal techniques. A pilot study was carried out to evaluate the antimicrobial activity of Grape Seed Extract (GSE) in the concentrations of 10%, 30% and 50%, Sodium Hypochlorite (NaOCl) 6%, and Calcium Hypochlorite (Ca(ClO)₂) 2.5% and 6% by the technique of antibiogram disks by means of direct contact in agar to determine the concentration of GSE to be used in the next study. All concentrations of GSE resulted in the lowest inhibition halos among the active substances. Therefore, GSE 50% was used, because it presented better effectiveness between tested concentrations. After that, 88 standard molar roots were obtained 15 mm in length. *E. faecalis* (ATCC 19433) was prepared in BHI broth and 100 µl of the culture was introduced into the roots, repeating the procedure every 48 hours for renewal of the culture medium for 21 days. The roots were randomly divided into 8 groups (n = 11) according to the auxiliary chemical used: NaOCl 6%, Ca(ClO)₂ 6%, GSE 50%, and Physiological Serum 0.9% (control group). For each substance two preparation techniques were used: ProTaper Next X1 and X2 and Reciproc R25. The evaluation of the disinfection of different systems and substances was performed by counting CFUs before and after treatments. Statistical analysis was performed using the ANOVA test

followed by Tukey's complementary test ($\alpha = 0.05$). The results showed no statistically significant difference between the active substances ($p > 0.05$), which were higher than the control group ($p < 0.05$). Statistical similarity was also observed among the preparation techniques ($p > 0.05$). According to the results, it can be concluded that $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 6% and GSE 50% present antimicrobial capacity similar to NaOCl, as the technique using Protaper Next was similar to the technique with Reciproc.

Keywords: reciprocating motion, rotational motion, sodium hypochlorite, calcium hypochlorite, grape seed extract.

1. INTRODUÇÃO

A presença de micro-organismos no canal radicular, estudada inicialmente por Miller (1890), é o fator determinante da origem de lesões perirradiculares. Geralmente a contaminação ocorre por meio de cárie dentária, traumatismo dentário sem exposição pulpar, ou pelos túbulos dentinários (BAUMGHARTER e FALKLER, 1991; KAKEHASHI *et al.*, 1965; SUNDQVIST, 1976; SUNDQVIST *et al.*, 1998; VIANNA, 2006).

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) é uma bactéria resistente capaz de sobreviver a períodos prolongados, sem nutrientes, no interior do sistema de canais radiculares. Por essa característica, desempenha fundamental importância na ocorrência de lesões apicais persistentes, além de ser o principal micro-organismo relacionado ao insucesso endodôntico (EVANS *et al.*, 2002; MCHUGH *et al.*, 2004; STUART *et al.*, 2006).

Além da presença de micro-organismos resistentes, a variação anatômica é um fator relevante para a dificuldade da limpeza e desinfecção dos canais. O complexo sistema do canal radicular revela canais acessórios, secundários, laterais, istmos, delta apical, foraminas, variando entre os grupos de dentes, sendo que quanto mais posterior o dente, mais variada a sua anatomia (VERTUCCI, 1987; TEIXEIRA *et al.*, 2003; SERT e BAYIRLI, 2004; MATTUELLA *et al.*, 2005;

FREGNANI e HIZATUGU, 2012; BRUM, 2013). *E. faecalis* pode sobreviver em regiões de difícil acesso, como *istmos* e túbulos dentinários e nem sempre é possível uma total desinfecção com instrumentos e soluções irrigadoras. Assim, a terapia endodôntica deve proporcionar a limpeza e desinfecção de todas as particularidades do canal radicular, essencialmente na região apical, onde o acesso é mais difícil (EVANS *et al.*, 2002).

A limpeza e desinfecção dos canais radiculares dependem da ação mecânica dos instrumentos endodônticos e a ação química das substâncias auxiliares. O uso de instrumentos endodônticos reduz consideravelmente a quantidade de micro-organismos no interior do canal radicular. No entanto a ação mecânica é insuficiente para proporcionar uma adequada desinfecção, por isso às substâncias químicas devem ser utilizadas para auxiliar na desinfecção de canais radiculares (BYSTRÖM e SUNDQVIST, 1981; PETERS *et al.*, 2002).

O uso de instrumentos rotatórios e reciprocantes vêm sendo relatados na literatura por possuir potencial na redução bacteriana nos canais radiculares. No entanto ainda pouco se sabe qual dos sistemas é mais eficiente durante o preparo mecânico. Os instrumentos rotatórios e reciprocantes surgiram para facilitar a conduta clínica. ProTaper Next e Reciproc diferem-se na estrutura do instrumento e na técnica de instrumentação. O primeiro apresenta uma secção transversal em forma de retângulo, convexo ou côncavo, girando de forma excêntrica, criando movimento de rotação simétrico (JOHNSON *et al.*, 2008; PEREIRA *et al.*, 2013; PROTAPER NEXT ROTARY FILES), enquanto que o segundo possui uma secção transversal em forma de “S” com duas

lâminas ativas sendo utilizado no movimento recíprocante (PLOTINO *et al.*, 2012).

O uso de substâncias químicas auxiliares é essencial para auxiliar na descontaminação. A escolha da substância deve ser criteriosa, avaliando as propriedades que a solução apresenta, devendo ser biocompatível, ter efeito antimicrobiano e capacidade de dissolver tecidos. Fatores como concentração, temperatura, volume empregado, e tempo de permanência no conduto radicular influenciam na eficácia da substância (BYSTRÖM e SUNDQVIST, 1983; PAIVA e ANTONIAZZI, 1991; COHEN e BURNS, 2000; VIANNA, 2006).

A substância mais utilizada na Endodontia como solução irrigadora é o Hipoclorito de sódio (NaOCl), a base de cloro. O uso de cloro para descontaminação é um método muito popular utilizado em diversas áreas, como por exemplo, para a desinfecção de água contaminada. A cloração demonstrou ser eficaz para matar bactérias e vírus, mas não para alguns protozoários. O cloro inativa um micro-organismo danificando sua membrana celular. Uma vez que a membrana celular é enfraquecida, o cloro pode entrar na célula e interromper a respiração celular e a atividade do DNA (dois processos que são necessários para a sobrevivência celular) (SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE).

Qualquer tipo de cloro que é adicionado à água durante o processo de tratamento resultará na formação de ácido hipocloroso (HOCl) e íons de hipoclorito (OCl⁻), que são os principais compostos desinfetantes na água clorada. Dos dois, o ácido hipocloroso é o mais eficaz. A quantidade de cada composto presente na água depende do nível de pH da água antes da adição de cloro. Dependendo das condições

de pH requeridas e das opções de armazenamento disponíveis, podem ser utilizadas diferentes substâncias contendo cloro. Os três tipos mais comuns de cloro usado no tratamento de água são: gás de cloro, hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio (SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE).

O NaOCl é constituído pelos sais de sódio do ácido hipocloroso e é um composto contendo cloro que pode ser usado como desinfetante. Foi introduzido na Odontologia por Walker (1936), como substância química auxiliar por apresentar boas propriedades como dissolver tecidos pulpare e boa atividade antimicrobiana. Porém até os dias atuais, não se tem segurança no seu manuseio devido a inúmeros acidentes que podem ser provocados quando em contato com tecidos periapicais (PASHLEY *et al.*, 1985; HÜLSMANN e HAHN, 2000; GURSOY *et al.*, 2006; KLEIER *et al.*, 2008; MOTTA *et al.*, 2009; DE SERMENÕ *et al.*, 2009), pela sua citotoxicidade e instabilidade química. Além disso, pode interferir na adesão de materiais restauradores à dentina (SANTOS *et al.*, 2006; FARINA *et al.*, 2011) e promover destruição de colágeno dentinário (MOREIRA *et al.*, 2009, GHISI *et al.*, 2015).

A partir das desvantagens do NaOCl, novas alternativas de soluções químicas auxiliares precisam ser testadas. Hipoclorito de Cálcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$), é um composto químico que contém sais de oxigênio de halogênio. É largamente usado no tratamento de água e como agente alvejante (alvejante em pó). Este composto é considerado relativamente estável e possui mais cloro disponível do que o hipoclorito de sódio (alvejante líquido). Sua distribuição é na forma de produto sólido granulado.

Ca(ClO)₂, por ser uma substância recentemente estudada na Endodontia, há poucos estudos relatando capacidade antimicrobiana. Alguns autores já relataram essa atividade (DE ALMEIDA *et al.*, 2014), bem como sua capacidade de dissolver matéria orgânica (DUTTA e SAUNDERS, 2012; DUMANI *et al.*, 2016; SEDIGH-SHAMS *et al.*, 2016; LEONARDO *et al.*, 2016), sendo uma substância aceitável em termos de migração celular, viabilidade e nível de resposta inflamatória baixa. Estes resultados sugerem que Ca(OCl)₂ se qualifica como uma solução irrigante para procedimentos endodônticos devido a citotoxicidade e biocompatibilidade aceitável (BLATTES *et al.*, 2017). Apesar de esses estudos iniciais indicarem que o Ca(ClO)₂ apresenta potencial para ser utilizado como irrigante endodôntico, novas pesquisas devem ser realizadas para avaliar seu potencial e outras propriedades importantes antes de ser indicado como um irrigante endodôntico.

Uma substância que apontou atividade antimicrobiana na Endodontia e avanços para a Dentística Restauradora foi o uso de Extrato de Semente de Uva (ESU), uma substância ricamente composta em PAs (proantoacínidinas) (WU, 2009) derivada de plantas, como caules, frutas, sementes e flores (SARNI-MANCHADO *et al.*, 1999; JOSHI *et al.*, 2001), a qual produz ligações cruzadas no colágeno da dentina (AL-AMMAR *et al.*, 2009), além de apresentar baixa citotoxicidade (HAN *et al.*, 2003).

Acredita-se que o ESU apresente boa atividade antimicrobiana, uma vez que Cecchin *et al.* (2015), observaram que apresenta boa capacidade de eliminar micro-organismos quando utilizado em canais retos e a técnica de preparo com instrumentos manuais. Além disso, melhora as propriedades da dentina e colágeno favorecendo os

procedimentos adesivos (AL-AMMAR *et al.*, 2009; CECCHIN *et al.*, 2015), apresenta capacidade de diminuir micro-organismos presentes na cavidade oral (BAYDAR *et al.*, 2006; AL-HABIB *et al.*, 2010), e é eficaz na redução de patógenos causadores de infecções alimentares (GADANG *et al.*, 2008; KAO *et al.*, 2010). ESU tem a capacidade de liberar fator de crescimento endotelial e sua aplicação tópica apresenta aumento da densidade celular e aumento da deposição de tecido conjuntivo no local da ferida, melhorando o fechamento da ferida na pele (HEMMATI *et al.*, 2015). No entanto, outro estudo mostrou que em concentrações de 6,5% o ESU apresentou redução antimicrobiana inferior ao NaOCl utilizando instrumentos reciprocantes para o preparo de canais radiculares (D'Aviz, 2015).

Diante do exposto, tornou-se necessária a realização do presente para avaliar o potencial de descontaminação utilizando instrumentos rotatórios e reciprocantes e substâncias químicas auxiliares alternativas, como o $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ e o ESU.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Microbiota Endodôntica

É possível localizar micro-organismos em inúmeros locais, por isso o ambiente em que vivem os define. Em circunstâncias normais, as estruturas de esmalte, dentina e cimento apresentam-se íntegros e o canal radicular imune da irrupção bacteriana (VIANNA, 2006). Entretanto, a via mais comum para os micro-organismos da flora oral invadir a polpa do dente é por meio de uma cavidade aberta causada pela cárie dentária e em casos onde não há comunicação, como em traumatismo dentário sem exposição pulpar, as bactérias penetram por intermédio dos túbulos dentinários (SUNDQVIST, 1976; BAUMGHARTER e FALKLER, 1991). Assim, o sistema de canal radicular se torna um "santuário privilegiado" para os micro-organismos, seus subprodutos e produtos de degradação, dificultando a determinação de quais bactérias estão presentes no canal radicular (BAUMGHARTER e FALKLER, 1991).

A influência entre elementos microbiológicos e ociosidade de nutrientes são os fatores primordiais que demarcam o arranjo microbiano da cavidade bucal. A produção de dióxido de carbono e hidrogênio e o consumo de oxigênio, juntamente com outros fatores, sustentam a propagação de micro-organismos anaeróbios (SUNDQVIST *et al.*, 1998;

VIANNA, 2006). A presença de micro-organismos no canal radicular foi estudada inicialmente por Miller (1890). O pesquisador constatou que nas doenças periapicais há presença de patógenos. Brown e Rudolph (1957), utilizaram um contraste escuro para microscopia e descobriram que as bactérias predominantes em um canal radicular infectado não foram cultiváveis. Já Kakehashi *et al.* (1965), observaram a presença de bactérias expondo a polpa dental de ratos contaminados, concluindo que a presença de micro-organismos é o fator determinante da origem de lesões perirradiculares.

Em meados da década de 70, houve um avanço nos estudos bacteriológicos revelando a predominância de bactérias anaeróbicas estritas nos sistemas de canais radiculares (BAUMGHARTER e FALKLER, 1991). Em 1975, Wittgow e Sabiston avaliaram dentes humanos por meio de cultura, investigando a microbiota endodôntica. Logo após, Sundqvist (1976), realizou um estudo de dentes com coroas hígidas, com necrose pulpar e lesão periapical utilizando bactérias aeróbias e anaeróbias por meio de amostras de cultura de canais radiculares. Concluiu que havia uma preponderância de bactérias anaeróbicas.

Na cavidade bucal encontram-se em torno de 1010 bactérias, diversificante entre 700 diferentes famílias de micro-organismos (AAS *et al.*, 2005). Gomes *et al.* (2004), encontraram 56 espécies diferentes de micro-organismos pesquisando a microbiota existente em 19 elementos dentais retratados endodonticamente e em 41 dentes com necrose pulpar. Ao encontrar 70% de bactérias anaeróbias estritas, concluíram que há diferença entre a microbiota nas infecções primárias e secundárias. Inicialmente aparecem micro-organismos gram positivos e negativos,

variando as espécies, porém nas infecções secundárias, diminui a quantidade de espécies, limitando a uma ou duas e predominando micro-organismos gram positivos e anaeróbios facultativos, como é a característica da bactéria *E. faecalis*.

2.2 Anatomia dos Canais Radiculares

Para alcançar o sucesso do tratamento endodôntico é de extrema importância o conhecimento anatômico do elemento dental por parte do profissional. A abertura coronária, a localização dos canais radiculares, o preparo e, principalmente, uma visão direta e detalhada do canal radicular são condições imprescindíveis para compreender essa arte da Odontologia, em que o cirurgião-dentista tenta interpretar a imagem de um plano tridimensional em apenas uma dimensão (PÉCORA *et al.*, 1993; ESTRELA e FIGUEIREDO, 1999; SOARES e GOLDBERG, 2001, CECCHIN *et al.*, 2012).

A anatomia interna dos canais radiculares usualmente não reflete a clareza da anatomia externa da raiz radicular (PÉCORA *et al.*, 1992). A grande variação morfológica dental interna e a falta de domínio da anatomia podem resultar em falhas nas etapas do tratamento dos canais radiculares, principalmente quando se trata da eliminação de micro-organismos através da remoção do tecido pulpar ou restos necróticos. Todavia, o cirurgião-dentista necessita conhecer desde a câmara pulpar até a região apical, onde se escondem estruturas anatômicas de suma importância para o tratamento, como istmos, reentrâncias, ramificações, delta apical, foraminas e o forame (VERTUCCI, 1987; TEIXEIRA *et al.*, 2003; SERT e BAYIRLI, 2004; MATTUELLA *et al.*, 2005; BRUM,

2013). A região apical de uma raiz armazena patógenos responsáveis pela infecção perirradicular (SJÖGREN *et al.*, 1997; BAUGH e WALLACE, 2005; SILVEIRA *et al.*, 2007), no entanto, nenhum sistema é capaz de promover a completa limpeza dos canais radiculares (USMAN *et al.*, 2004; FORNARI *et al.*, 2010; PAQUÉ *et al.*, 2010; BRUM, 2013).

Dessa forma, o entendimento da complexidade que envolve a região radicular e a microbiota endodôntica presente nas infecções é de suma importância para enfim escolher a melhor solução irrigadora e instrumentos mecânicos para eliminar o máximo de componentes microbianos presentes. Pois se acredita que a principal causa da falha no tratamento é a sobrevivência de micro-organismos na parte apical ou reentrâncias das raízes radiculares (MARROQUÍN *et al.*, 2004).

O elemento dental com constante necessidade de tratamento endodôntico é o primeiro molar inferior (SILVEIRA *et al.*, 2005). Deve-se gentilmente analisar a anatomia pulpar desse dente. Os molares inferiores apresentam frequentemente uma raiz mesial e uma raiz distal, raramente podendo ostentar uma raiz acessória. Na raiz mesial, situa-se dois canais: méso-vestibular e méso-lingual e esporadicamente, um único canal. A raiz distal habitualmente revela um canal, mas podendo surgir dois canais (GREEN, 1973; PÉCORRA *et al.*, 1992).

2.3 *Enterococcus faecalis*

Na natureza polimicrobiana das infecções endodônticas primárias predomina bactérias anaeróbias gram negativas e bastonetes, diferenciando das infecções secundárias, onde se encontra poucas

espécies bacterianas (BAUMGHARTER e FALKLER, 1991; HANCOCK, 2001). Infecções resistentes ao tratamento endodôntico apresentam bactérias entéricas na composição de sua microbiota (BRUM, 2013). Essa resistência pode ser em virtude de bactérias entéricas já estarem presentes no canal e se multiplicarem durante o tratamento ou aflorarem em consequência da infiltração nas restaurações, isolamento inadequado e comunicação do canal radicular ao meio bucal devido à necessidade de drenagem (SIREN *et al.*, 1997). Outras fontes relatam a procedência da bactéria pelas mãos de profissionais de saúde, por meio de instrumentos clínicos ou de paciente para paciente, caracterizando a contaminação cruzada (KOCH *et al.*, 2004).

E. faecalis excede os desafios da sobrevivência dentro do sistema de canais radiculares de inconstantes maneiras (STUART *et al.*, 2006). Há indício que exibem polimorfismo genético difundido e proteína de união ao colágeno que auxiliam a se fundir à dentina (FIGDOR *et al.*, 2003). É eficiente em resistir a momentos prolongados sem nutrientes. No instante em que encontra nutriente, as células abstinentes são capazes de revigorar, utilizando soro como uma fonte nutricional. O soro proveniente do ligamento periodontal e osso alveolar ampara o *E. faecalis* a fixar-se ao colágeno tipo I (LOVE, 2001). Ademais, é hábil em formar biofilme que colabora na resistência à extinção das bactérias, concedendo a ser 1000 vezes mais resistente à fagocitose (DISTEL *et al.*, 2002).

E. faecalis desempenha um papel relevante nas lesões apicais persistentes posteriormente ao tratamento endodôntico por ser um micro-organismo assíduo, anaeróbio facultativo, gram positivo, capaz de

sobreviver como único organismo ou como principal micro-organismo da flora bacteriana (EVANS *et al.*, 2002; MCHUGH *et al.*, 2004; STUART *et al.*, 2006; BRUM, 2013). Apesar de ser um micro-organismo isolado nos canais radiculares e principal motivador do insucesso endodôntico, está presente também no aparelho genital feminino humano (KOCH *et al.*, 2004), e promovem um sortimento variado de infecções humanas como bacteremia (GRANINGER e RAGETTE, 1992; RIBEIRO SOBRINHO *et al.*, 1998; DE MELO MALTOS *et al.*, 2003), e infecção urinária (FELMINGHAM *et al.*, 1992).

Por serem anaeróbios facultativos, dispõem da habilidade de se reproduzirem na presença ou ausência de oxigênio (RÔÇAS *et al.*, 2004). *Enterococcus* perduram em locais agressivos, abrangendo pH extremamente alcalino, sobrevivem entre ciclos de 10 a 45° C e resistem a temperatura de 60° C ao longo de 30 minutos (TENDOLKAR *et al.*, 2003; STUART *et al.*, 2006). *E. faecalis* está presente entre 4 a 40% das infecções endodônticas primárias (RÔÇAS *et al.*, 2004), e mais elevado em casos de infecções persistentes, como em falhas de tratamento, onde a probabilidade de estar presente é em 90% nas infecções de retratamento endodôntico (DAHLÉN *et al.*, 2000; RÔÇAS *et al.*, 2004; STUART *et al.*, 2006).

Para detectar a presença de *E. faecalis*, Peciulienė *et al.* (2000), investigaram 25 dentes mostrando evidência radiográfica de periodontite apical necessitando reintervenção endodôntica. O tratamento endodôntico foi realizado sob condições assépticas e o comprimento de trabalho foi determinado 1 mm aquém do ápice radiográfico. Produtos químicos não foram usados para evitar um efeito negativo sobre a

viabilidade microbiana. O NaOCl diluído em água (2,5%/2 ml) e EDTA (17%/5 ml) foram usados como soluções irrigadoras. Amostras microbiológicas antes e após o preparo foram recolhidas. Nessas amostras, 14 bactérias estavam presentes, visto que *E. faecalis* era micro-organismo único em 5 amostras. Os autores concluíram que o *E. faecalis* é um patógeno altamente relacionado ao insucesso endodôntico, após comprovarem a presença da bactéria em 70% dos casos analisados no estudo.

Pinheiro *et al.* (2003), analisou amostras microbiológicas de 60 dentes com tratamento endodôntico que apresentavam lesões periapicais persistentes. Os dentes foram submetidos à retratamento não cirúrgico. As amostras revelaram a presença de 51 espécies de micro-organismos, sendo que na maioria dos casos encontrou-se uma ou duas espécies bacterianas. A mais frequente foi *E. faecalis* estando presente em 45% dos casos.

Rôças *et al.* (2004), coletaram amostras bacterianas de 80 dentes com necessidade endodôntica e reintervenção, para avaliar a prevalência de *E. faecalis* nos canais radiculares. De acordo com as desigualdades patológicas, os dentes foram divididos em quatro grupos: G1, 21 casos de lesões crônicas assintomáticas; G2, 10 casos de periodontite apical aguda; G3, 19 casos de abscessos periapicais agudos e G4, 30 dentes com tratamentos endodônticos que apresentavam lesões periapicais crônicas assintomáticas. Foram encontrados *E. faecalis* numa porcentagem de 33%, 10% e 5% para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Já no último grupo, 67% dos casos o patógeno estava presente. Conclui-se que esse micro-organismo está presente na maioria das infecções secundárias.

Sedgley *et al.* (2005), realizaram um estudo testando as hipóteses de que (i) *E. faecalis* pode sobreviver a longo prazo em túbulos dentinários sem nutrientes adicionais, (ii) a densidade celular inicial influencia a sobrevivência de *E. faecalis* em canais radiculares instrumentados e (iii) a capacidade de produção de gelatinase influencia na sobrevivência de *E. faecalis* em canais radiculares. 150 dentes com canal único extraídos instrumentados com uma lima # 60 e divididos em seis grupos de 25. Dentro de cada grupo 10 canais foram inoculados com gelatinase produzindo *E. faecalis* (OG1-S) e os outros 10 com sua gelatinase defeituosa mutante *E. faecalis* (OG1-X). Cinco canais por grupo foram mantidos como controles, não inoculados. Os canais radiculares dos grupos 1 e 2 foram inoculados e incubados durante 48 horas a 37 ° C e selados com guta-percha e cimento de óxido de zinco. Os canais radiculares dos grupos 3, 4, 5 e 6 foram inoculados com 106, 105, 104 e 103 respectivamente, e os demais deixaram-se sem preenchimento. Todos os dentes foram selados coronalmente com cimento de ionômero de vidro. Após a incubação de 6 (grupos 1, 3-6) e 12 meses (grupo 2) a 37 ° C em 100% de umidade, os fragmentos de raiz foram analisados quanto à presença de *E. faecalis*, utilizando cultura, reação em cadeia da polimerase e métodos histológicos. Após o término do estudo, verificou-se que *E. faecalis* foi recuperado de todos os dentes de 95-100% de dentes inoculados. A densidade celular inicial e a produção de gelatinase não influenciaram na recuperação de *E. faecalis* ($P > 0,05$; teste qui-quadrado). A infecção do túbulo dentinário foi evidente sob microscopia óptica de dentes inoculados após 48 h, 6 e 12 meses de incubação. Concluiu-se que *E. faecalis* sobrevivem em canais radiculares durante 12 meses *ex vivo*. As implicações clínicas são que *E.*

faecalis viável, mantido no momento da obturação do tratamento endodôntico poder proporcionar um meio de cultura de longo prazo para infecção subsequente.

Chivatxaranukul *et al.* (2008), avaliaram a invasão por *E. faecalis* nos túbulos dentinários em dentes humanos extraídos após 8 semanas de incubação. As paredes dos canais radiculares de 16 seções ou eram intactos ou instrumentados com ou sem camada de *Smear layer* presente. Extensão e profundidade máxima de invasão nos túbulos foram avaliadas histologicamente e comparados entre os grupos. No estudo sobre adesão, 44 amostras de raízes subdivididas verticalmente estavam dispostos de modo a expor túbulos dentinários alinhadas longitudinalmente. As superfícies foram expostas a *E. faecalis* e incubado aerobicamente durante 2 h. As amostras foram processadas para análise em microscopia eletrônica de varredura. A adesão bacteriana às paredes tubulares contra OD fractura foi calculada como número de células por 100 micrometros. A estirpe de *E. faecalis* utilizados neste estudo mostrou moderada invasão aos túbulos depois de 8 semanas. Nos estudos de adesão, significativamente houve mais bactérias aderidas a OD fraturada do que para as paredes dos túbulos dentinários (ANOVA, $P < 0,001$). Com relação à parede tubular, a adesão foi maior no interior do que na dentina exterior ($P = 0,02$) e maior quando a adesão bacteriana foi testada em meio definido quimicamente do que em solução salina tamponada com fosfato (ANOVA, $P < 0,001$). Embora *E. faecalis* invade facilmente os túbulos dentinários, não aderem preferencialmente nos paredes dos túbulos. A colonização inicial dos túbulos dentinários por *E. faecalis* pode depender principalmente de outros fatores.

Ghinzelli *et al.* (2014), avaliaram, *in vitro*, a influência da terapia da ativação do ultrassom sobre o sistema de canais radiculares infectados com *E. faecalis*. 50 dentes humanos extraídos, com canais unirradiculares foram alargados até um instrumento #60, esterilizados. Em seguida foram inoculados com *E. faecalis* e incubados durante 30 dias. As amostras foram divididas em cinco grupos (n = 10) de acordo com o protocolo de descontaminação: G1 (grupo controle) - nenhum procedimento foi realizado; G2 - fotossensibilizador (0,01% azul de metileno); G3 - ativação ultrassônica de fotossensibilizador (0,01% azul de metileno); G4 – terapia fotodinâmica sem ativação ultrassônica; e G5 - terapia fotodinâmica com testes de ativação com ultrassom. Análises microbiológicas (contagem de CFU) e microscopia eletrônica de varredura foram realizadas para avaliar e ilustrar, respectivamente, a eficácia dos tratamentos propostos. Os dados foram submetidos ao teste ANOVA, seguido pelo teste post-hoc de Tukey ($\alpha = 0,05$). Os resultados do teste microbiológico demonstrou que G5 (terapia fotodinâmica com ativação ultrassônica) mostrou a menor contaminação significativa (3,17 log UFC / mL), que foi estatisticamente diferente de todos os outros grupos ($p < 0,05$). G4 (terapia fotodinâmica) mostrou uma média de contaminação de 3,60 log UFC / mL, que foi estatisticamente diferente dos grupos 1, 2 e 3 ($p < 0,05$). Concluiu-se que o uso de ativação ultrassônica em terapia fotodinâmica melhorou o potencial para a descontaminação, resultando na eliminação mais elevada de *E. faecalis* do espaço do canal radicular.

Um estudo realizado por Tong *et al.* (2016), avaliou os efeitos do *E. faecalis* presentes nos osteoblasto quando inativado pelas soluções irrigadoras de NaOCl 5,25% e Clorexidina 2%. Subsequentemente,

utilizou-se um teste de contagem de células para examinar os efeitos de *E. faecalis* sobre a proliferação de células osteoblastos MC3T3-E1. A coloração com vermelho de alizarina foi utilizada para determinar a mineralização dos osteoblastos, e a indução osteogênica foi quantificada pela determinação da densidade óptica da solução de corante. Os níveis de expressão relativa dos genes osteogênicos foram detectados após 1, 4, 7 e 14 dias. Os resultados indicaram que *E. faecalis* inativado por clorexidina inibiu a proliferação de osteoblastos, enquanto que o *E. faecalis* inativada com NaOCl não suprimiu a proliferação celular. Várias concentrações de *E. faecalis* inativado induziram diferentes graus de mineralização de osteoblastos. Em conclusão, o presente estudo demonstrou que o *E. faecalis* inativado por clorexidina exerceu mais de um efeito sobre a proliferação de osteoblastos em comparação com o *E. faecalis* inativado por NaOCl.

2.4 Instrumentos Endodônticos

O sucesso do tratamento endodôntico está diretamente relacionado à limpeza e descontaminação dos canais radiculares, tendo como finalidade restringir dentina contaminada, tecido pulpar contaminado e micro-organismos que se fazem presentes, por meio de preparo biomecânico, com instrumentos que tocam as paredes do canal radicular e com auxílio de soluções irrigadoras (COHEN e BURNS, 2000; SCHÄFER *et al.*, 2006; SEMANN *et al.*, 2009).

Todavia, o essencial da terapia endodôntica é conservar as características anatômicas primitivas, limpando e obturando tridimensionalmente, obtendo o máximo possível de vedação do canal

radicular (DUARTE *et al.*, 2001; HIZATUGU *et al.*, 2007). A diminuição de micro-organismos intracanaís é primordial para o tratamento endodôntico. Isso é adquirido utilizando preparo químico-mecânico efetivo (HÜLSMANN *et al.*, 2005; BÜRKLEIN *et al.*, 2013).

Shilder (1974), preconizou a técnica denominada *Cleaning and Shaping*, que simboliza limpando e modelando, estabelecendo uma maior dilatação do terço cervical, deixando um formato cônico/afunilado no sentido coroa/ápice conforme o comprimento de trabalho. Entende-se por limpeza e modelagem a remoção de todo o conteúdo orgânico e inorgânico ao mesmo tempo em que se preserva a anatomia natural do canal radicular, evitando desvios, degraus e outras complicações que podem levar ao insucesso do tratamento (HIZATUGU *et al.*, 2007).

A zona do canal radicular mais crítica para limpeza, descontaminação e de difícil acesso é o periápice, no terço apical (COHEN e BURNS, 2000; SPANGBERG, 2001). O periápice é uma complexa estrutura que circunda o ápice dental, onde se distingue o cimento, o ligamento periodontal e o osso alveolar. Essa região possui uma excelente capacidade reparadora, desde que a terapia endodôntica seja bem executada, respeitando a integridade dos tecidos apicais (LEONARDO e LEONARDO, 2012).

Para cumprir a exigência básica da instrumentação dos canais radiculares, múltiplas formas de instrumentos e técnicas de modelagem são relatadas por autores. Habitualmente, cirurgiões-dentistas realizam o preparo e limpeza do canal radicular com limas manuais de aço inoxidável, porém não conduzem às vantagens desejadas (WEINE *et al.*, 1975; PETERS *et al.*, 2001; HÜBSCHER *et al.*, 2003; CORRÊA, 2015).

No momento presente, nenhum instrumento pode desinfetar todo o conjunto radicular (USMAN *et al.*, 2004; HÜLSMANN *et al.*, 2005; HAAPASALO *et al.*, 2005; FORNARI *et al.*, 2010; PAQUÉ *et al.*, 2011; BÜRKLEIN *et al.*, 2012). A retificação dos canais radiculares é um predomínio inconveniente no decorrer do preparo do canal radicular. Com o propósito de refrear irregularidades nos canais radiculares e facilitar um preparo químico-mecânico eficiente e seguro, diferentes técnicas de instrumentação foram otimizadas (SPANGBERG, 2001; YOO e CHO, 2012). Nos últimos anos, foram realizados muitos estudos sobre os instrumentos de NiTi.

O precursor dos estudos sobre NiTi indicando para a área de Odontologia, devido as propriedades físicas e mecânicas foi Civjan *et al.* (1975). As ligas de NiTi incorporaram na Endodontia previamente por Walia *et al.* (1988), a partir de um fio ortodôntico de seção circular, submetido à microusinagem. Para apreciar esse ensaio foram preparados, em níquel-titânio e aço-inoxidável, protótipo de limas tipo L com aparências fiéis e assim sucedidas a testes de cisalhamento, força horária e anti-horária. Deduziu-se que as limas de aço-inoxidável eram duas ou três vezes menos flexíveis que as limas de NiTi. Essas por sua vez, eram mais vigorosas às rupturas, independente do sentido horário ou anti-horário, além de dispor de memória elástica e baixo módulo de elasticidade.

Um dos progressos de grande mérito na Endodontia foi o advento da instrumentação rotatória nos anos 70. O preparo biomecânico através de motor de acionamento de instrumentos de níquel-titânio foi desenvolvido para proporcionar uma limpeza rápida, eficiente e viável devido a grande flexibilidade desses instrumentos (SOUZA, 2006). A

propriedade única de superelasticidade pode permitir que instrumentos de NiTi pudessem ser usados em canais radiculares curvos exercendo menos força lateral, já que esse instrumento pertence a uma categoria de ligas denominadas "ligas de memória de forma" que têm algumas qualidades extraordinárias (BERGMANS *et al.*, 2001).

Mesmo com instrumentos modernos, técnicas atualizadas, o tratamento endodôntico não é uma incumbência fácil. A instrumentação tradicional demanda muito tempo clínico durante a limpeza dos canais devido ao uso das limas manuais e uso de soluções irrigadoras para desinfecção, consumindo em torno de 70% do tempo total de trabalho (LEONARDO e LEONARDO, 2012).

A evolução do sistema rotatório, utilizando instrumentos de NiTi acionados a um motor e com rotação completa (360°), asseguraram um progresso no preparo biomecânico do canal radicular e provocaram transformações conceituais, já que se alcança um maior diâmetro cirúrgico (WU *et al.*, 2002; PÉCORRA e CAPELLI, 2006). Esse avanço tecnológico trouxe melhorias, tanto para o profissional como para o paciente em razão da simplicidade de aplicação, rapidez, redução de *stress* por parte do profissional e maior conforto para o paciente (LEONARDO e LEONARDO, 2012). No entanto, a utilização de sistemas rotatórios de NiTi expõe alguns inconvenientes: o uso de múltiplos instrumentos para ampliar o canal radicular em uma conicidade e tamanho adequado; um prazo mais prolongado de trabalho; e instrumentos básicos para conceder uma trajetória de deslizamento previamente ao instrumento rotatório, o qual pode não ser tão bem alcançado em canais radiculares atresicos (YARED, 2011).

Outras duas preocupações para o operador são a eventualidade de instrumentos fraturarem devido à fadiga motivada pela utilização repetida da lima e a probabilidade de contaminação cruzada, aliada a incapacidade de sanear e esterilizar instrumentos endodônticos adequadamente. Schneider *et al.* (2007), constatou príons em tecido pulpar humano. Ao analisar a superfície de instrumentos rotatórios de NiTi, encontrou detritos orgânicos e estrutura dentária. Logo, para refrear fadiga do instrumento e a possível contaminação cruzada, foi recomendada a utilização única de limas endodônticas. Em contrapartida, o uso único de instrumento pode tornar-se um fardo econômico para o endodontista.

Instrumentos automatizados não rotatórios foram introduzidos no campo de trabalho atualmente, podendo ser diferenciados entre os *sistemas oscilatórios* e os *sistemas de rotação alternada*. A sistemática oscilatória é clássica, primitivamente adotada em contra-ângulo especial com movimentos de oscilação entre 60 e 120 graus, similar à instrumentação manual, unicamente com mais ciclos de oscilação. Utilizaram-se as mesmas limas manuais, porém o efeito alcançado não foi convincente. Entretanto, com o advento das limas de NiTi retornaram a ser divulgadas (FREGNANI e HIZATUGU, 2012).

É possível notar a transformação na relação entre paciente e endodontista e do endodontista com a própria especialidade, devido ao advento das limas de NiTi, pois esta mudou a área da Endodontia para melhor. A Endodontia está cada vez mais evoluindo com instrumentos, aparelhos e materiais modernos no intuito de criar uma prática endodôntica mais precisa, rápida e menos desgastante para o profissional, bem como em prol de uma excelência clínica. Essa

tecnologia faz parte do avanço científico. Com essa evolução é necessário avaliar sempre as características intrínsecas de cada instrumento utilizado (FREGNANI e HIZATUGU, 2012).

É importante salientar o diferencial entre as técnicas. Devido à cinemática envolvida, os sistemas não possuem a mesma competência na remoção de *debris*. A diferença básica entre as duas técnicas está na segurança e eficiência dos instrumentos (FREGNANI e HIZATUGU, 2012).

2.4.1 Instrumentos Rotatórios

Múltiplos sistemas rotatórios de NiTi, com conicidades maiores e similar a anatomia dos canais radiculares foram introduzidos na Odontologia. O sistema ProTaper (Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Suíça) é distinto dos demais instrumentos por expressar variações na conicidade ao longo da sua parte ativa propiciando a origem de dois instrumentos distintos em função durante o preparo do canal radicular e com variáveis conicidades (CLAUDER e BAUMANN, 2004). Além do ProTaper Universal, existem o sistema ProTaper Next e ProTaper Gold (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça). ProTaper Next é o novo instrumento rotatório lançado pela Dentsply, inovado pelo desenho do instrumento para instrumentação de canais radiculares com total segurança. Comparado ao modelo tradicional, ProTaper Universal, a lima ProTaper Next apresenta uma secção transversal em forma de retângulo, convexo ou côncavo, girando de forma excêntrica. Ao contrário da ProTaper Universal que cria o movimento de rotação simétrico, ProTaper Next apresenta duas arestas que giram livremente,

enquanto outras duas arestas de corte entram em contato com as paredes do canal radicular, minimizando a torção das espiras do instrumento (Figura 1). Esse instrumento é fabricado com a liga M-wire, garantindo maior eficiência de corte, e resistência do instrumento devido a sua flexibilidade. Com movimento ondulatório exclusivo, centraliza o instrumento no canal radicular e apresenta espaço maior para acúmulo de debris.

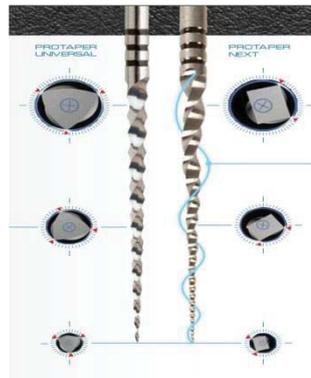
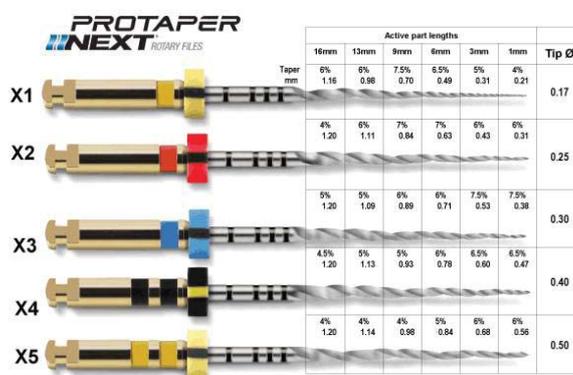


Figura 1 - Comparação ProTaper Universal e ProTaper Next
Fonte: PROTAPER NEXT ROTARY FILES. Dentsply Tulsa Dental Specialties. Disponível em:
http://www.tulsadentalspecialties.com/default/endodontics_brands/ProTaperNEXT.aspx . Acesso: 19 out. 2015.

Todos os instrumentos podem ser utilizados passivamente no canal até o comprimento de trabalho, mesmo em casos complexos, como canais atresícos e com curvaturas acentuadas. Assim como a ProTaper Universal, também possui conicidade variável, porém houve redução na sequência de instrumentos, reduzindo o tempo clínico de trabalho. Os instrumentos vêm nos seguintes tamanhos: *Glide Path* - P1 0.13/.02 e

P2 0.16/.02, *Shaping* -X1: 0.17/.04; X2: 0.25/.06; opcional - X3: 0.30/.07; X4: 0.40/.06; X5: 0.50/.06 e devem ser usados no motor rotatório a 300 rpm / 2 – 5.2 Ncm (recomendação fabricante) (Figura 2) (JOHNSON *et al.*, 2008; PEREIRA *et al.*, 2013; PROTAPER NEXT ROTARY FILES).



	Active part lengths						Tip Ø
	16mm	13mm	9mm	6mm	3mm	1mm	
X1	6%	6%	7.5%	6.5%	5%	4%	0.17
	1.16	0.98	0.70	0.49	0.31	0.21	
X2	4%	6%	7%	7%	6%	6%	0.25
	1.20	1.11	0.84	0.63	0.43	0.31	
X3	5%	5%	6%	6%	7.5%	7.5%	0.30
	1.20	1.09	0.89	0.71	0.53	0.38	
X4	4.5%	5%	5%	6%	6.5%	6.5%	0.40
	1.20	1.13	0.93	0.78	0.60	0.47	
X5	4%	4%	4%	5%	6%	6%	0.50
	1.20	1.14	0.98	0.84	0.68	0.56	

Figura 2 - ProTaper Next
 Fonte: PROTAPER NEXT ROTARY FILES. Dentsply Tulsa Dental Specialties. Disponível em:
 <http://www.tulsadentalspecialties.com/default/endodontics_brands/ProTaperNEXT.aspx>. Acesso: 19 out. 2015.

Um estudo para comparar a efetividade da instrumentação rotatória, manual e ultrassônica foi realizado com 40 dentes. O conduto radicular foi preenchido com corante tinta nanquim vermelha. Os dentes foram instrumentados com instrumentos ProTaper e sistema K3, ultrassônica com técnica coroa / ápice e manual-mecânico progressivo. Depois de realizado o procedimento as coroas foram cortadas no sentido longitudinal, de vestibular para lingual. Conclui-se que as técnicas empregadas em todos os grupos não foram capazes de remover

totalmente o corante das paredes. Mas observou-se que na região apical a limpeza foi mais efetiva com o instrumento ProTaper (GRECCA, 2003).

Aydin *et al.* (2007), avaliaram espécimes que foram contaminados com *E. faecalis* por 7 dias. Após padronizar o diâmetro da ampliação apical até o instrumento 30 para todos os grupos, foi realizado preparo químico-mecânico com os sistemas ProTaper e Hero 642 e irrigados com soro fisiológico. Os resultados mostraram que houve diminuição dos patógenos em 98% nos dois grupos. Conclui-se que a instrumentação mais agressiva causada pelo sistema ProTaper reduziu a microbiota patogêna mais efetivamente que a técnica do instrumento Hero 642.

Singla *et al.* (2010), utilizando ProTaper, Profile e limas manuais tipo K, avaliaram qual dos instrumentos seriam mais efetivos na redução bacteriana sem enfraquecer a raiz radicular. O sistema ProTaper e Profile reduziram bactérias em maior porcentagem. Quanto ao enfraquecimento radicular, o instrumento Profile demonstrou resultados melhores.

Paqué *et al.* (2011), utilizaram a lima F2 do sistema ProTaper acionada em movimentos recíprocante e o preparo realizado empregando a seguinte sequência das limas do sistema ProTaper, em movimentos de rotação contínua: SX, S1, S2, F1 e F2 para analisar mudança do volume dentinário, porcentagem de paredes preparadas e o grau de transporte do canal radicular induzidas em raízes de molares inferiores. Os resultados evidenciaram que não houve diferença estatística quanto ao volume dentinário e porcentagem do preparo. Porém, o método recíprocante apresentou um maior índice de transporte do canal no terço coronal, mas em terços apicais e médios não houve diferenças entre as duas técnicas.

Arias *et al.* (2014), compararam o pico de torque e força entre os instrumentos rotatórios ProTaper Universal e ProTaper Next durante a preparação dos canais radiculares de dentes extraídos. Doze incisivos superiores unirradiculares e seis molares inferiores com dois canais independentes na raiz mesial foram selecionados. Os canais foram instrumentados com limas tipo K #10 até o comprimento de trabalho e distribuídos aleatoriamente para serem preparados com os sistemas rotatórios. Os testes foram executados de forma padronizada em uma plataforma de teste de torque. Torques e força foram registrados. Os resultados do estudo mostraram que entre os instrumentos na mesma sequência, não há diferenças significativas no torque e força máxima, mas alguns instrumentos ProTaper Universal mostraram estatisticamente menor pico de torque e força do que outros para ambos os tipos de canais. Considerando que os instrumentos ProTaper Universal mostraram diferenças significativas em pico de torque e força ($P < 0,05$) entre canais radiculares de molares e incisivos, os instrumentos ProTaper Next mostraram força significativamente menor ($P < 0,04$) em canais de molares, mas o pico de torque não foi significativamente diferente para os incisivos centrais superiores ou raízes mesiais de molar inferiores. Os autores concluíram que instrumentos ProTaper Next apresentou maior regularidade no pico de torque para os canais radiculares de todos os grupos, do que instrumentos ProTaper Universal.

Capar *et al.* (2014), compararam os efeitos de 6 sistemas rotativos diferentes sobre transporte, curvatura do canal, relação de centralização, área de superfície, e as mudanças volumétricas de canais radiculares mesiais de molares inferiores com curvatura, através de tomografia computadorizada de imagem (TCCB). Canais radiculares mesio-

vestibulares de 120 primeiros molares inferiores com um ângulo de curvatura que varia de 20 a 40° foram divididos em 6 grupos de 20 canais. Com base em imagens de TCCB tomadas antes de instrumentação, os grupos foram equilibrados com respeito ao ângulo e raio de curvatura do canal. Os canais radiculares foram moldados com os seguintes sistemas com um tamanho apical de #25: OneShape (MicroMega, Besancon, França), ProTaper Universal F2 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça), ProTaper Next X2 (Dentsply Maillefer), Reciproc R25 (VDW, Munique, Alemanha), Twisted File Adaptive SM2 (SybronEndo, Orange, CA), e WaveOne (Dentsply Tulsa Especialidades Odontológicas, Tulsa, OK). Após o preparo do canal radicular, as alterações foram avaliadas com a imagem TCCB. O nível de significância foi fixado em $P = 0,05$. O sistema Reciproc removeu uma quantidade significativamente maior de dentina do que os sistemas de OneShape, ProTaper Universal, e Twisted File Adaptive ($P < .05$). Não houve diferença significativa entre os 6 grupos sobre transporte, curvatura do canal, mudanças de área de superfície, e centralização após a instrumentação. Os autores concluíram que os 6 sistemas de instrumentos endireitaram a curvatura do canal radicular e produziram transporte do canal semelhante na preparo dos canais mesiais de molares inferiores. Os instrumentos Reciproc exibiram um desempenho superior em comparação com os sistemas de OneShape, e Twisted File Adaptive e ProTaper Universal com respeito às alterações volumétricas.

Elnaghy e Elsaka (2014), avaliaram e compararam o volume de dentina removida, o transporte e capacidade de centralização de sistema ProTaper Next por meio de tomografia computadorizada de imagem. Sessenta canais méso-vestibulares de primeiros molares inferiores com

curvaturas de 25° a 35° foram divididos em 3 grupos experimentais (n = 20) de acordo com a técnica de instrumentação da seguinte forma: grupo ProGlider (trajetória de descida) / ProTaper Next, grupo PathFile (trajetória de descida) / ProTaper Next e grupo ProTaper Next (trajetória de descida não foi realizada). Os canais foram digitalizadas antes e após a instrumentação usando scanner de tomografia computadorizada por imagem para avaliar o transporte do canal radicular e centralização relação aos 3, 5, e 7 mm a partir das mudanças volumétricas e do ápice. Os dados foram analisados estatisticamente e o nível de significância foi fixado em $P < 0,05$. Não houve diferença significativa entre os grupos testados em relação ao volume de dentina removido e proporção de centralização ($p > 0,05$). Nos níveis de 3 mm e 5 mm, o grupo ProGlider / ProTaper Next, mostrou um valor significativamente menor no transporte entre os grupos ($p < 0,05$). No entanto, no nível de 7 mm, não houve diferença significativa no transporte do canal entre os grupos ($p > 0,05$). Concluiu-se que o método de instrumentação ProGlider / ProTaper Next revelou melhor desempenho com menos aberrações no canal quando comparado com a instrumentação realizada com PathFile / ProTaper Next ou somente o ProTaper Next.

Gagliardi *et al.* (2015), avaliaram as dimensões de transporte canal, capacidade de centralização, paredes do canal intocadas, e restante da espessura da dentina causadas pelos sistemas ProTaper Universal, ProTaper Next e ProTaper Gold (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) por meio de micro-imagens tomográficas computadorizadas. Foram avaliados vinte e quatro primeiros molares inferiores padronizados em 19 mm. O Sistema ProTaper Next apresentou valores percentuais significativamente maiores que os demais instrumentos. O instrumento

ProTaper Gold e ProTaper Next produziram menos transporte apical, porém ProTaper Next teve menos contato com a parede dos canais radiculares.

Li *et al.* (2015), compararam a incidência de microfissuras dentinárias produzidos pelos instrumentos ProTaper Universal (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça), WaveOne (Dentsply Maillefer), e ProTaper Next (Dentsply Maillefer) durante os procedimentos endodônticos em canais severamente curvados usando técnica de tintura. Sessenta molares humanos extraídos com 25 ° a 40 ° curvaturas radiculares foram divididos em 3 grupos de 20 dentes. Canais radiculares sem tratamento de 60 molares serviram como controlos negativos. Após a instrumentação dos canais, todas as raízes foram coradas com 1% de azul de metileno, durante 24 horas. As raízes foram então seccionadas no plano mais curvo e 2 mm abaixo e acima do plano mais curvo em baixa velocidade e com refrigeração. Um microscópio estereoscópico foi usado para inspecionar microfissuras dentinárias em ampliação de 60 vezes, e as diferenças entre estes 3 grupos de instrumentos foram analisados utilizando o teste do Qui-quadrado. Por fim, o sistema ProTaper Next induziu microfissuras dentinárias menos completas e incompletas em comparação com os sistemas ProTaper Universal e WaveOne ($p < 0,05$), e não houve diferenças significativas entre os sistemas ProTaper Universal e Waveone ($p > 0,05$). Os sistemas ProTaper Universal e WaveOne induziram significativamente mais fendas completas no plano de 2 mm acima do plano maior da curvatura em comparação com qualquer um dos outros 2 planos ($p = 0,004$). Os autores concluíram que o sistema ProTaper Next induz menos microfissuras dentinárias durante os procedimentos endodônticos em

canais radiculares severamente curvos, em comparação com os sistemas ProTaper Universal e WaveOne.

Para analisar a quantidade de material extruído apicalmente após a instrumentação do canal radicular com ProTaper Next e HyFlex em canais curvos, Koçak *et al.* (2015), avaliaram quarenta dentes primeiros molares extraídos com raízes mesiais curvas e de comprimentos semelhantes. Os canais foram instrumentados com ProTaper Next ou instrumentos HyFlex. O material extruído foi recolhido em tubos Eppendorf pré-pesado. Os tubos foram armazenados numa incubadora a 68° C durante 5 dias. Os tubos foram pesados para se obter o peso seco final do material extruído. O peso foi determinado subtraindo o peso inicial do peso final e a distribuição dos dados foi determinada pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis contínuas foram comparadas com o teste t de amostra independente ou Mann-Whitney U-test. O nível de significância foi fixado em $P = 0,05$. Ambos os instrumentos foram associados com extrusão apical de detritos. O grupo HyFlex teve significativamente menos extrusão de detritos do que o grupo ProTaper Next ($p = 0,014$). Portanto o instrumento HyFlex CM significativamente causa menos extrusão apical do que o instrumento ProTaper Next.

2.4.2 Instrumentos Reciprocantes

A nova concepção de instrumentação é uma mudança de paradigma, pois altera o conhecimento atual do alargamento progressivo do canal radicular com diferentes instrumentos até alcançar a anatomia adequada. Com a inovação dos instrumentos reciprocantes, utiliza-se somente um instrumento – instrumento alternativo – para amplificar o

canal radicular, mesmo em canais atrésicos e curvos, na hipótese da conicidade e tamanho ser adequados. A trajetória de descida não é mais um pré-requisito com este novo conceito de preparo do canal radicular. Este instrumento de formação vai seguir o caminho existente e natural do canal radicular (YARED, 2011).

Yared (2007), incorporou o movimento recíprocante manuseando um único instrumento ProTaper F2 (Dentsply, Maillefer, Suíça) com rotações no sentido horário e anti-horário de 140 ° a 70° a uma velocidade de 500-600 rpm (MACHADO *et al.*, 2015), ostentando uma nova concepção em relação aos instrumentos de NiTi. Ainda assim, a aplicação do instrumento em reciprocidade tem duas impertinências:

1. Ruptura do instrumento por fadiga cíclica pertinente à inflexibilidade do instrumento, correspondente ao tamanho, conicidade e secção transversal.
2. A imposição do princípio de um caminho de descida com instrumentos manuais previamente ao instrumento F2 em reciprocidade. A sensação clínica era que o instrumento F2 não cortava habilmente o canal radicular (YARED, 2011).

Mais tarde, a VDW (GmbH, Munique, Alemanha) lançou os sistemas recíprocantes de instrumento único WaveOne e Reciproc. Introduzido em 2010, o WaveOne requer pré-alargamento cervical e inclui 3 instrumentos: WaveOne Small, indicado para canais mais finos e atrésicos, com conicidade constante de 6% e diâmetro de ponta 0,21mm, sendo o único instrumento com conicidade fixa; WaveOne Primary com diminuição de diâmetro de 8% a 5,5% e diâmetro da ponta de 0,25mm; e WaveOne Large, com um diâmetro de ponta de 0,40 diminuindo de 8% a 4,5%, indicado para canais amplos. WaveOne Primary e Large são

fabricados com conicidade variável, decrescente, diminuindo em direção cornária. O instrumento WaveOne Gold inclui 4 instrumentos com aumento gradual de diâmetro. Mesmo trabalhando no movimento rotatório, esse instrumento realiza um movimento rotatório de 360° à esquerda (anti-horário) a cada três ciclos de oscilação horário – anti-horário (LEONARDO e LEONARDO, 2012; MACHADO *et al.*, 2015).

O instrumento mais contemporâneo, difundido em março de 2011, é o sistema Reciproc de rotação alternada em sentidos horário e anti-horário com progressão à esquerda (FREGNANI e HIZATUGU, 2012).

Os instrumentos são fabricados de um M-wire de NiTi que assegura completa maleabilidade e persistência à fadiga do que o corriqueiro instrumento de NiTi. São três instrumentos com cone regressivo (YARED, 2011). Reciproc possui uma secção transversal em forma de “S” (Figura 3), com duas lâminas ativas, sendo equivalente a secção transversal dos instrumentos Mtwo (instrumento rotatório). O ângulo maior de rotação (sentido anti-horário) sistematiza a progressão do instrumento para o interior do canal radicular e a execução de corte de dentina à medida que o ângulo menor corta (sentido horário) na direção oposta ao ângulo maior, liberando o instrumento garantindo um caminho estável no interior do canal radicular (PLOTINO *et al.*, 2012).

O *stress* do movimento recíprocante é minimizado pelo movimento especial *counter-clockwise* (ação de corte no sentido anti-horário) e *clockwise* (liberação do instrumento no sentido horário) restando o perigo de fadiga cíclica (DE-DEUS *et al.*, 2010). Não é aconselhável utilizar esses instrumentos em movimentos rotatórios, pois

a lâmina de corte possui uma angulação projetada para a esquerda (YARED, 2011).

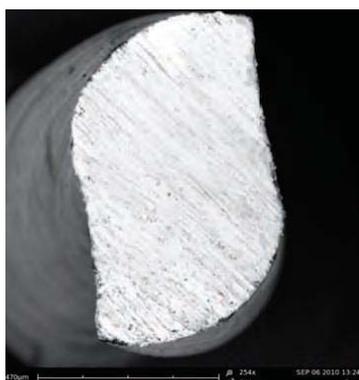


Figura 3 - Secção transversal em forma de “S” do instrumento Reciproc
Fonte: Yared, G. Canal preparation with only one reciprocating instrument without prior hand filing: A new concept. 2011.

Como já descrito aqui, existem três instrumentos, cada qual com sua indicação. A escolha deve ser fundamentada pela radiografia pré-operatória. O instrumento R25 tem diâmetro de 0,25 mm na ponta e conicidade 8% (#25/.08), conveniente para canais atrésicos segmentários ou despercebido em radiografia pré-operatória. O R40 tem diâmetro de 0,40 mm na ponta, conicidade de 6% (#40/.06) e é apropriado para canais médios no qual a lima manual #20 atinge o comprimento de trabalho. E por fim, o R50 é eleito para canais radiculares amplos e médios em que a lima manual #30 alcança passivamente o CT. Apresenta um diâmetro de 0,50 mm em sua ponta e uma conicidade de 5% (#50/.05) (YARED, 2011).

Vários autores descreveram os benefícios essenciais, como tempo moderado de tratamento endodôntico (MACHADO *et al.*, 2012), facilitação da técnica, eficiência de corte (PLOTINO *et al.*, 2014; ALATTAR *et al.*, 2015), centralização do preparo do canal radicular (YOO e CHO, 2012; BÜRKLEIN *et al.*, 2013), resistência saliente à fadiga cíclica, redução do transporte do canal radicular (CAPAR *et al.*, 2014), redução bacteriana (ALVES *et al.*, 2012; MACHADO *et al.*, 2013), essencialmente no terço apical.

Machado *et al.* (2012), analisaram o tempo necessário dos instrumentos WaveOne e Reciproc para instrumentar o canal radicular. Os autores utilizaram 20 blocos de canais simulados (Dentsply Maillefer, Ballaigues, VD, Switzerland) com curvatura de 35°. O comprimento de trabalho foi padronizado em 16 mm. A amostra foi dividida em 2 grupos, onde o grupo 1 foi instrumentado com o sistema WaveOne (Dentsply Maillefer, Ballaigues, VD, Switzerland) utilizando-se da lima Primary (25/.08), e o grupo 2 foi instrumentado com o sistema Reciproc (VDW, Munich, DE-BY, Germany) utilizando-se da lima R25 (25/.08). Somente o tempo de trabalho foi cronometrado, sem adição de tempo para irrigação. Os diferentes terços também foram considerados separadamente. A análise estatística foi por meio do teste de Mann-Whitney, Kuskal-Wallis e Student-Newman-Kels ($p = 0.05$). Houve diferença significativa entre os grupos em ambas as situações (com e sem tempo adicional), onde o Reciproc obteve menor tempo nos terços médio e apical do que o WaveOne. O tempo médio de instrumentação para o instrumento Reciproc foi de 23,9 segundos e 32,3 segundos para WaveOne. Juntamente com o procedimento de irrigação percebeu-se a diferença, pois o tempo foi de 1 minuto e 10,4 segundos e 1 minuto e 51

segundos, respectivamente (diferença significativa com ou sem irrigação: $p = 0.0002$). Conclui-se que os dois sistemas recíprocos demonstram ser rápidos na instrumentação do canal radicular, sendo o Reciproc mais rápido que o WaveOne.

Analisando a capacidade dos instrumentos recíprocos não intervir na anatomia original dos canais radiculares, Berutti *et al.* (2012), utilizaram os sistemas ProTaper e WaveOne em 30 blocos de acrílico preparados para simular canais radiculares. Fotografias dos blocos foram realizadas antes e após o preparo, sendo sobrepostas para avaliação da capacidade de manter a trajetória original dos canais simulados. Revelou-se que o sistema WaveOne produziu canais mais centralizados que o sistema ProTaper, deduzindo uma melhor conservação anatômica.

Bürklein e Schafer (2012), no intuito de comparar a capacidade de modelagem e a eficácia na limpeza de canais curvos, realizaram um estudo avaliando os seguintes critérios: tempo para realização do preparo, quantidade de resíduos nos terços coronais, médios e apicais, além da quantidade de *smear layer* deixada após o preparo com instrumentos recíprocos WaveOne e Reciproc e os rotatórios ProTaper e Mtwo. Os resultados demonstraram na avaliação da limpeza dos canais, os instrumentos Reciproc e Mtwo proporcionam uma melhor limpeza do terço apical. Na quantidade de *smear layer* não houve diferenças entre os grupos. Reciproc e Mtwo produziram uma menor quantidade de resíduos no terço apical, nos demais terços não houve diferença estatística. Houve um decréscimo no tempo de preparo de aproximadamente de 60% quando empregada a técnica recíproca. Portanto, a utilização de uma única lima não teve impacto na limpeza quando comparada com a sequência das técnicas do ProTaper e Mtwo.

Normalmente, a dor pós-operatória está relacionada com a extrusão de *debris* no ápice radicular. Koçak *et al.* (2013), utilizando instrumentos ProTaper, Revo-S, Self Adjusting File e Reciproc analisou a extrusão de *debris* durante o preparo mecânico e revelou que apesar de não haver diferença estatística, o sistema ProTaper causa maior extrusão e o sistema Reciproc a menor, comparada com os demais instrumentos

Em relação à capacidade de desinfecção promovida pelos sistemas de lima única, Machado *et al.* (2013), avaliaram a redução bacteriana promovida pelos instrumentos WaveOne Primary, Reciproc R25, ProTaper até o instrumento F2, Mtwo até o instrumento 25/ 0.06 e limas manuais até a de número 35. Amostras foram coletadas antes do preparo e logo após a instrumentação e sete dias depois. Observou-se uma descontaminação semelhante para todos os instrumentos no término do preparo e nos 7 dias após a instrumentação.

Siqueira *et al.* (2013), avaliaram a capacidade de desinfecção e modelagem de 3 protocolos utilizados na preparação de canais radiculares mesiais de molares inferiores por meio da técnica de bacteriologia correlativa e análise tomográfica computadorizada (MCT). Os canais mesiais dos molares inferiores foram extraídos e contaminados com *E. faecalis* durante 30 dias, divididos em três grupos com base na sua configuração anatômica tal como determinado por análise de MCT e de acordo com a técnica de preparação com os instrumentos: Self-Adjusting File (ReDent-Nova, Ra'anana, Israel), Reciproc (VDW, Munique, Alemanha), e Twisted File (SybronEndo, Orange, CA). Em todos os grupos, NaOCl 2,5% foi utilizado como irrigante. Amostras do canal foram tomadas antes e após a instrumentação, e quantificação bacteriana foi realizada utilizando método de cultura. Em seguida, as

raízes mesiais foram submetidas à análise de MCT adicional, a fim de avaliar a formação dos canais. Por fim, todos os protocolos de descontaminação promoveram uma redução bacteriana intracanal altamente significativa ($P < 0,001$). Comparações quantitativas e qualitativas entre os grupos não revelou diferenças significativas ($P > 0,05$). Análise correlativa não mostrou relação estatisticamente significativa entre a redução bacteriana e a percentagem de aumento significativo dos parâmetros analisados ($P > 0,05$). Os autores concluíram que os três sistemas de instrumentação têm desinfecção semelhante e apresentam bom desempenho na preparação dos canais mesiais de molares inferiores.

Ferrer-Luque *et al.* (2014), utilizaram instrumentos reciprocantes e rotatório: Mtwo de ponta 40/0.04, Twisted File de ponta 40/ 0.04 e Reciproc R40, para preparo mecânico e NaOCl e água destilada como solução irrigadora para redução de *E. faecalis*. Avaliaram-se sessenta e seis raízes de pré-molares. A contaminação foi quantificada antes ao preparo, imediatamente ao término e sessenta dias após. O índice de crescimento bacteriano do grupo em foi utilizado o instrumento Mtwo associado ao NaOCl foi significativamente menor em relação aos outros grupos.

Plotino *et al.* (2014), avaliaram a eficiência de corte dos instrumentos Reciproc e WaveOne. Foram utilizados 24 instrumentos novos de cada grupo usando um motor controlado por torque (prata Reciproc) e divididos em 4 grupos ($n = 12$): grupo 1, Reciproc ativado pelo programa Reciproc ALL; grupo 2, Reciproc ativado pelo programa WaveOne ALL; grupo 3, WaveOne ativado por Reciproc ALL; e grupo 4, WaveOne ativado por WaveOne ALL. O dispositivo utilizado para o

ensaio de corte consiste de uma estrutura principal à qual um suporte de plástico móvel para a peça de mão é ligado e um bloco de aço inoxidável, contendo um bloco de Plexiglas (inPlexiglass, Roma, Itália) contra a qual a eficiência de corte dos instrumentos foi testado. O comprimento do bloco de corte em 1 minuto foi medida num programa computadorizado com uma precisão de 0,1 mm. Média e desvio padrão de cada grupo foram calculados, e os dados foram analisados estatisticamente com a análise de variância e teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Os resultados apontaram o Reciproc R25 apresentando maior eficiência de corte de WaveOne, para ambos os movimentos utilizados ($p < 0,05$), em particular, os instrumentos utilizados Reciproc com seu movimento de vaivém adequado apresentam uma eficiência estatisticamente significativa de corte, sendo maior do que instrumentos WaveOne utilizados com o seu movimento alternativo adequado ($p < 0,05$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os 2 movimentos sobre os instrumentos ($p > 0,05$).

Alattar *et al.* (2015), compararam a eficiência de corte de 3 sistemas de instrumento único utilizados com um movimento de escovagem em canais ovais. Sessenta pré-molares foram selecionados e aleatoriamente divididos em 3 grupos de acordo com o arquivo usado em instrumentação do canal: R25 Reciproc (VDW, Munique, Alemanha), WaveOne Primário (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça), e um instrumento protótipo (UFile; MicoMega, Besancon, França). A instrumentação foi realizado em 4 passos consecutivos, de acordo com as instruções dos fabricantes, 5 cursos de escovagem contra a parede do canal com um instrumento folgado, seguidos de mais 5. Tomografia computadorizada Cone-Beam foram realizadas após cada etapa de

preparação. As imagens pré-instrumentação e pós-instrumentação foram sobrepostos aos níveis apicais e, em seguida, avaliada em termos de mudanças no sentido vestibulo-lingual (Δ BL) e as dimensões mesio-distais (Δ MD). A instrumentação com um movimento de escovação resultou nas seguintes conclusões: nos níveis apicais, nenhuma diferença significativa foi encontrada em Δ BL para os 3 grupos ($p > 0,05$). No entanto, Δ MD era significativamente menor para o grupo de Reciproc ($p = 0,006$) e UFile ($p = 0,03$). Nos níveis médios, o grupo do instrumento protótipo apresentou a maior importância em termos de Δ BL ($p < 0,0001$), mas o mais baixo em termos de Δ MD ($p = 0,003$). Δ MD foi significativamente mais elevado para o grupo WaveOne nos níveis médios ($p = 0,05$). Concluiu-se que o arquivo protótipo foi mais eficiente do que os outros arquivos nos níveis médio, ao passo que todos os sistemas agiram da mesma maneira nos níveis apicais. O aumento no número de voltas do instrumento resultou em mais de corte da dentina.

Yoo e Cho (2012), realizaram um trabalho comparando os instrumentos recíprocos Reciproc e WaveOne e os instrumentos rotatórios ProTaper, Profile e limas manuais tipo K, em canais radiculares simulados em blocos de resina. O objetivo foi investigar a capacidade de modelagem de cada instrumento, a quantidade de material removido na diferentes níveis do canal radicular, a mudança de comprimento de trabalho e a manutenção da curvatura do canal. Utilizou-se 25 canais de 19 mm de comprimento, sendo um total de 13 mm de comprimento na porção coronal e 6 mm de comprimento para a porção da curvatura apical. Os 25 blocos de resina foram separados aleatoriamente em 5 grupos. Após a instrumentação de cada grupo novas fotos foram obtidas. Os resultados obtidos revelaram que os

instrumentos Reciproc e WaveOne mantiveram a curvatura do canal original em canais curvos melhor do que ProTaper e Profile.

Alves *et al.* (2012), utilizando a técnica de cultura bacteriana e qPCR, avaliaram a redução bacteriana em canais ovais após a instrumentação com sistema reciprocante, instrumento Reciproc R40 e rotatório BioRace instrumentação com as limas 25/0.04 e 40/0.04. Os autores concluíram que pode utilizar lima única no canal quando comparado com a técnica rotatória, desde que o volume e tempo de irrigação e o tamanho do preparo cervical sejam semelhantes.

Cogitando a hipótese de que instrumentos rotatórios possibilitam a formação de defeitos na dentina, Bürklein *et al.* (2013), estudaram a ocorrência de falhas dentinárias após preparos com instrumento rotatórios ProTaper e Mtwo e o uso de um único instrumento em movimento reciprocante Reciproc e WaveOne. Ao analisar os terços: cervical, médio e apical, todos os instrumentos promoveram defeitos na dentina, principalmente o instrumento Reciproc, em terço apical, obtendo um índice mais alto em comparação as demais técnicas.

Martins *et al.* (2017) avaliaram a eficácia dos sistemas ProTaper Next (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) e Reciproc (VDW, Munique, Alemanha) na remoção do material obturador de 32 pré-molares inferiores, utilizando irrigação sônica ou ultrassônica, como métodos de limpeza adicionais. Os dentes foram divididos aleatoriamente em 4 grupos (n = 8) de acordo com o sistema de instrumentação e o método de limpeza adicional como segue: Reciproc 40 com ativação ultrassônica, Reciproc 40 com agitação sônica, ProTaper Next (X2, X3 e X4) Ativação e ProTaper Next (X2, X3 e X4) com agitação sônica. Uma solução de hipoclorito de sódio a 2,5%

(NaOCl) foi aplicada continuamente durante a modelação do canal, totalizando 20 mL para cada amostra. Além disso, a camada de esfregaço foi removida por meio de PUI (Irrisonic Tip, Helse, Santa Rosa do Viterbo, SP, Brasil) com 1 mL de EDTA a 17% durante 1 minuto. Os canais foram preenchidos pela técnica de cone único utilizando cones Dentsply Maillefer guta-percha e selante Endofill (Dentsply Maillefer). A porção cervical foi selada com material de enchimento temporário (Coltosol, Coltene, Suíça). Os espécimes foram armazenados em um ambiente com 100% de umidade a 37° C por 1 mês, para permitir a configuração completa do selante. Todos os espécimes foram analisados utilizando imagens tomográficas microcomputadas antes e após a remoção do material e também após a aplicação dos métodos de limpeza adicionais. Para os resultados, nenhum dos protocolos de retratamento removeu completamente o material de enchimento dos canais radiculares e não houve diferença significativa entre os sistemas de instrumentação ($P > 0,05$). Da mesma forma, não foi observada diferença significativa entre os métodos de limpeza adicionais em qualquer dos terços dos canais radiculares avaliados ($P > 0,05$). Os autores concluíram que os sistemas ProTaper Next e Reciproc foram equivalentes no que se refere à eficácia na remoção do material de enchimento, independentemente do método de limpeza adicional utilizado. Os métodos de limpeza adicionais foram equivalentes e não melhoraram significativamente a remoção do material de enchimento.

2.5 Substâncias Químicas Auxiliares

O uso de instrumentos endodônticos reduz consideravelmente os micro-organismos predominantes na microbiota endodôntica (BYSTRÖM e SUNDQVIST, 1983; PETERS *et al.*, 2002). No entanto a ação mecânica é insuficiente para proporcionar a íntegra desinfecção dos canais radiculares (BYSTRÖM *et al.*, 1985). É imprescindível o uso de substâncias químicas auxiliares com a finalidade de favorecer a diminuição dos depósitos bacterianos nos canais radiculares. Os elementos químicos contribuem na lubrificação do canal no momento da atuação dos instrumentos, na destituição da *smear layer*, na decomposição do exsudato e dissolução de tecido necrótico pulpar (BYSTRÖM e SUNDQVIST, 1983; VIANNA, 2006).

Entre as exigências essenciais das substâncias químicas auxiliares estão: atividade antimicrobiana, dissolver tecidos, tensão superficial, ser capaz de limpar e tolerância tecidual (PAIVA e ANTONIAZZI, 1991; COHEN e BURNS, 2000). Existem várias substâncias químicas utilizadas por cirurgiões-dentistas e muitas estudadas por pesquisadores. A que mais se destaca no mercado de trabalho é o NaOCl, a base de cloro.

O cloro foi descoberto pela primeira vez na Suécia em 1744. Em 1835, o cloro foi usado para remover odores da água, mas somente em 1890 o cloro foi divulgado como ferramenta eficaz para a desinfecção. Há uma série de fatores que afetam o processo de desinfecção. Para isso a concentração ou a dosagem de cloro e o tempo de contato com cloro (o tempo que o cloro é deixado reagir com quaisquer impurezas na água)

são os fatores mais importantes (SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE).

O cloro necessita de tempo para inativar quaisquer micro-organismos que possam estar presentes na água a ser tratada para consumo humano. Quanto mais tempo o cloro estiver em contato com os micro-organismos, mais eficaz será o processo. O tempo de contato é o tempo desde que o cloro é adicionado pela primeira vez até ao momento em que a água é utilizada ou consumida. Quanto maior for a concentração de cloro, mais eficaz será o processo de desinfecção da água. À medida que a concentração de cloro aumenta o tempo de contacto água-cloro necessário diminui em última instância.

Como descrito anteriormente, os tipos mais comuns de cloro utilizado para tratamento da água são o gás de cloro, NaOCl e Ca(ClO)₂ (SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE).

O gás de cloro é amarelo-esverdeado e muito tóxico. É o efeito tóxico do gás de cloro que o torna um bom desinfetante, porém também é tóxico para os seres humanos (SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE). Não é utilizado na Odontologia.

O cloro pode ser tóxico não só para micro-organismos, mas para os seres humanos também, como na região dos olhos, passagens nasais e sistema respiratório (SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE). Pelo fato do NaOCl apresentar certa toxicidade aos tecidos periapicais (SPANGBERG *et al.*, 1973; PASHLEY *et al.*, 1985; HÜLSMANN e HAHN, 2000), substâncias inovadoras estão emergindo, como é o exemplo do ESU e o Ca(ClO)₂, ambos muito pouco estudados até o momento.

2.5.1. Hipoclorito de Sódio

O NaOCl é constituído pelos sais de sódio do ácido hipocloroso e é um composto contendo cloro que pode ser usado como desinfetante. É produzido quando o gás de cloro é dissolvido numa solução de hidróxido de sódio. Está em forma líquida, claro com uma cor amarela clara, e tem um cheiro forte do cloro. O NaOCl é extremamente corrosivo e deve ser armazenado em local fresco, escuro e seco. O NaOCl se decompõe naturalmente, portanto, não pode ser armazenado por mais de um mês de cada vez. De todos os diferentes tipos de cloro disponíveis para uso, este é o mais fácil de manusear (SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE).

A solução de NaOCl se forma pelo borbulhamento do gás de cloro sobre a solução de hidróxido de sódio (NaOH), gerando a solução de NaOCl (NaOCl), sal (NaCl) e água (H₂O) (LEONARDO e LEONARDO, 2012):



No entanto, a sua eficácia pode ser afetada pela concentração, temperatura e pH (CAMPS *et al.*, 2009; MERCADE *et al.*, 2009). Quando o pH se encontra mais baixo, o cloro livre do NaOC se une ao ácido hipocloroso (HOCl), que é mais ativo de que o ânion hipoclorito (OCl) (DORNELLES-MORGENTAL *et al.*, 2011). Assim, a junção de NaOCl com soluções ácidas pode potencializar seu efeito antimicrobiano (CAMPS *et al.*, 2009; DORNELLES-MORGENTAL *et al.*, 2011).

Soluções de NaOCl têm sido utilizadas na Odontologia há quase 100 anos. O NaOCl é a substância química auxiliar introduzida na Endodontia por Walker (1936), conseqüentemente vem sendo manuseado em variadas concentrações (BRUM, 2013). Destaca-se das demais soluções irrigadoras devido a sua atividade antimicrobiana perante os micro-organismos encontrados no conduto radicular e eficiência em dissolver tecido (BYSTRÖM e SUNDQVIST, 1983; GOMES *et al.*, 2001; NAENNI *et al.*, 2004; VIANNA *et al.*, 2004).

O NaOCl é usado em diferentes concentrações e apresenta excelentes propriedades: baixa tensão superficial, neutraliza parcialmente os produtos tóxicos, bactericida, possui ação dissolvente, desidrata e solubiliza as substâncias proteicas, tem interação rápida, tem dupla ação detergente, ação de limpeza e ação lubrificante (LEONARDO e LEONARDO, 2012). A capacidade do NaOCl de dissolver tecidos advém do volume de matéria orgânica existente, da assiduidade e proporção da agitação mecânica e da região de toque acessível do tecido (MOORER e WESSELONK, 1982).

Apesar de suas vantagens relatadas, deve-se ter cuidado no seu manuseio devido a diversos acidentes ocorridos com NaOCl (GURSOY *et al.*, 2006; KLEIER *et al.*, 2008; DE SERMENÕ *et al.*, 2009; MOTTA *et al.*, 2009). Entre as desvantagens do NaOCl estão a interferência na adesão de materiais restauradores à dentina (SANTOS *et al.*, 2006; FARINA *et al.*, 2011), ser tóxico quando em contato com os tecidos periapicais (SPANGBERG *et al.*, 1973; PASHLEY *et al.*, 1985; HÜLSMANN e HAHN, 2000) e diminuir a resistência à fratura e instabilidade química (SANTOS *et al.*, 2006; FARINA *et al.*, 2011).

Entre tantos acidentes provocados pelo uso inadequado do NaOCl, Becking (1991), relatou três casos relevantes em seu estudo. Um dos casos, tratamento endodôntico de segundo molar inferior no lado esquerdo. Durante a aplicação da solução irrigadora, repentinamente ocorreu inchaço progressivo no lado esquerdo da mandíbula e pescoço. No dia seguinte houve necrose da mucosa até a região do incisivo da região envolvida, com anestesia do nervo mentoniano. Foi necessário uso de medicação sistêmica e a cura da mucosa demorou aproximadamente dois meses.

Para evitar esses acidentes deve ser ter precaução nos atendimentos clínicos. Cuidados como o uso do isolamento absoluto é essencial para evitar extravasamento externo bucal, além de evitar a pressão excessiva durante a aplicação da solução de NaOCl do interior do canal radicular, evitam maiores preocupações. Caso ocorrer extravasamento interno, durante ou após o tratamento endodôntico, é fundamental informar o paciente sobre o ocorrido e cuidados necessários, além de administrar antibióticos, anti-inflamatórios e analgésicos específicos (BECKING, 1991).

Baumgarther e Cuenin (1992), analisaram por meio de MEV no terço médio de canais radiculares o uso de NaOCl nas concentrações 0,5%, 1%, 2,5% e 5,25%. A solução irrigadora foi levada para o interior dos canais com agulha de irrigação e aparelho ultrassônico. Os autores concluíram que todas as concentrações da solução irrigadora, em ambos os métodos de aplicação foram eficazes na liberação de detritos nos canais radiculares. Smear Layer foi observada em todas as superfícies instrumentados, independentemente da concentração de NaOCl ou dispositivo de irrigação. O NaOCl nas concentrações de 1%, 2,5% e

5,25% removeu completamente remanescentes pulpares. Já o NaOCl 0,5% removeu resíduos pulpares, porém deixou alguns restos na superfície.

Siqueira *et al.* (2000), analisaram 40 pré-molares submetidos à contaminação com *E. faecalis*, e comparou a redução bacteriana nos canais radiculares com concentrações de NaOCl 1%, 2,5%, 5,25% e um grupo controle com soro fisiológico, com volume total de 7 mL para todas as substâncias. Os quatro grupos foram instrumentados até a lima #40. Para avaliar a descontaminação obtida pelos diferentes protocolos foram realizadas mensurações antes e após os preparos químicos. Apesar de não haver diferença estatística, todas as concentrações de NaOCl foram efetivas na redução do número de UFC de *E. faecalis*.

Berber *et al.* (2006), avaliaram 180 pré-molares humanos extraídos foram infectados com *E. faecalis* durante 21 dias. Os dentes foram divididos em 12 grupos: grupo 1: 5,25% NaOCl + técnica híbrida, grupo 2: 5,25% NaOCl + NiTi, técnica rotatória 4 milímetros mais curto do que o ápice, grupo 3: 5, 25% técnica rotativa NaOCl + NiTi (Hero 642), grupo 4: 2,5% NaOCl técnica híbrida; grupo 5: 2.5% de NaOCl + NiTi técnica rotativo 4 mm mais curto do que o vértice, grupo 6: 2,5% técnica rotatória NaOCl + NiTi (Hero 642), grupo 7: 0,5% NaOCl a técnica + híbrido, grupo 8: 0,5% NaOCl + NiTi técnica rotatória 4 milímetros mais curto do que o ápice, grupo 9: 0,5% técnica rotatória NaOCl + NiTi (Hero 642), grupo 10: solução salina estéril + técnica híbrida, grupo 11: solução salina estéril + NiTi técnica rotativo 4 mm mais curto do que o vértice, grupo 12: solução salina estéril + técnica rotatória NiTi (Hero 642). Amostras foram colhidas antes e após os preparos. Não houve diferença estatística na redução de UFCs. No

entanto, os autores observaram que no terço apical, o NaOCl 5,25% apresentou uma redução menor de UFCs comparado aos os grupos. Assim, concluíram que o NaOCl tem capacidade de entrar nos túbulos dentinários e promover redução bacteriana.

Retamozo *et al.* (2010), realizara um estudo com a finalidade de determinar o tempo necessário e a mínima concentração para uma eficaz eliminação de *E. faecalis* em túbulos dentinários. Utilizando incisivos centrais bovinos, os autores confeccionaram 400 cilindros e dividiram em 24 grupos, diferenciando pela concentração de NaOCl e tempo de exposição. As concentrações foram 1,3%, 2,5% e 5,25% e os tempos foram de: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 minutos. Os resultados revelaram que NaOCl 5,25% no intervalo de 40 minutos foi o métodos mais eficiente, pois promoveu total remoção de *E. Faecalis* nos túbulos dentinários.

Chaudhry *et al.* (2011), relatou extravasamento de NaOCl em 5 pacientes. O primeiro caso, em um pré-molar inferior, a paciente relatou dor severa irradiando para o ângulo esquerdo da mandíbula, desenvolvido durante a irrigação do canal radicular usando 1 ml de NaOCl a 5,25%. No momento seguinte iniciou inchaço submandibular e úlcera necrótica superficial de 1,5 cm entre o canino inferior esquerdo e pré-molares. Após 5 dias, o inchaço tinha aumentado para 4 cm e a úlcera para 3 cm. O acidente causado pelo extravasamento de NaOCl ocasionou uma série de fatores, durante 3 meses, que levaram a paciente à necessidade de cirurgia estética. Segundo caso, ocorreu em um canino superior esquerdo. A paciente relatou perda de sensibilidade na face esquerda e fraqueza dos músculos faciais. Esteróides intravenosos e antibióticos foram administrados no hospital devido à gravidade do

inchaço. Após 3 meses, ela recuperou a sensação bochecha esquerda, mas tinha sensibilidade na região do ápice do canino superior esquerdo. No terceiro caso, extravasamento da solução irrigadora através do ápice de incisivo central superior esquerdo, foi receitado antibiótico e após 8 dias surgiu uma úlcera de 1,5 cm de diâmetro e parestesia em um ponto do lábio superior que persistiu mesmo após 3 meses. No quarto e último caso, foi relatado extravasamento de NaOCl em um tratamento endodôntico de primeiro pré-molar inferior, sem isolamento absoluto. Imediatamente houve inchaço de 5 cm de diâmetro e úlcera de 1 cm no sulco bucal da região do dente. A paciente sofreu perda auditiva no ouvido esquerdo e relatou luzes piscando intermitentes no olho esquerdo, mas isso era pouco provável que tenha resultado do ferimento químico. Após 3 meses, o inchaço tinha resolvido, mas ela desenvolveu dor neuropática necessitando de tratamento adicional.

Wang *et al.* (2012), comparam os efeitos antibacterianos de soluções irrigadores em *E. faecalis* jovens e maduros dentro de túbulos dentinários, por meio de microscopia confocal de varredura a laser. As bactérias foram introduzidas nos túbulos dentinários por centrifugação. No primeiro dia e após 3 semanas de incubação, 40 espécimes de dentina infectadas foram expostas a 1 e 3 minutos de exposição as solução irrigadoras: NaOCl 2% e 6%, CHX 2%, QMix, e água estéril como controle. Um número significativamente menor de bactéria reduziu após as 3 semanas. Três minutos de exposição resultou na melhor redução bacteriana em todos os grupos experimentais. Para a microbiota de *E. faecalis* madura, as soluções de NaOCl 6% e QMix foram mais eficazes.

Nakamura *et al.* (2013), avaliaram a eficácia do uso alternado de NaOCl 1%, 5,25% e 15% de ácido cítrico em associação com duas

técnicas de instrumentação para desinfecção de canais radiculares infectados com *E. faecalis* e *Candida albicans*. 80 pré-molares inferiores com canais retos foram padronizados para 15 mm de comprimento e infectados com cultura mista das bactérias durante 28 dias. Para controle utilizaram 5 dentes não contaminados e não instrumentados. Os dentes foram instrumentados com ProTaper Universal até o instrumento F5 e limas manuais tipo K até # 50. Com pontas de papel estéril, foram realizadas amostras microbiológicas antes e após o preparo químico-mecânico. Os resultados apontaram o NaOCl 5,25% usado sozinho como mais eficaz na redução bacteriana.

Ghisi *et al.* (2015) avaliaram os efeitos de Sterilox, uma água superoxidada, NaOCl a 5% e 2% e 17% EDTA nos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina de 80 dentes incisivos de bovinos, onde as substâncias foram testadas separadas e associadas (NaOCl 5%, NaOCl 5% + EDTA, NaOCl 2%, NaOCl 2% + EDTA, Sterilox, Sterilox + EDTA, EDTA sozinho e água destilada). A concentração de NaOCl foi determinada por titulação iodométrica, enquanto a concentração de EDTA foi determinada por análise volumétrica. Todos os irrigantes foram utilizados à temperatura ambiente ($23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). A solução de Sterilox (Optident Dental, Ilkley, West Yorkshire, UK) foi obtida cerca de 15 minutos antes da utilização, por uma passagem dupla de solução de cloreto de sódio em elétrodos de titânio, utilizando o Sistema Odontológico Sterilox (Optident Dental). Além disso, foram preparadas soluções de NaOCl e EDTA (CIENTEC - Fundação de Ciência e Tecnologia, Porto Alegre, RS, Brasil) 7 dias antes do uso e armazenadas longe da luz à temperatura ambiente. Nos grupos com irrigação final (NaOCl 5% + EDTA, NaOCl 2% + EDTA e Sterilox + EDTA), utilizou-

se 2 mL de EDTA e permaneceu por mais 5 minutos no canal radicular. No final, foram utilizados 2 mL de NaOCl ou Sterilox. Após a preparação do canal radicular, os 15 mm apicais de cada amostra foram seccionados perpendicularmente ao seu eixo longo e depois clivados longitudinalmente em 2 metades. Os 15 mm apicais foram seccionados longitudinalmente em 2 fragmentos, um para análise de microscopia de luz em lâminas coradas com pigmento vermelho (componente orgânico) e outro para análise de microscopia eletrônica de varredura (componente inorgânico). A solução química NaOCl 5% teve maior efeito sobre o componente orgânico da dentina em área e profundidade do que NaOCl 2%. As soluções químicas NaOCl 5% + EDTA, NaOCl 5% e NaOCl 2% + EDTA causaram a maior alteração na matriz orgânica, colágeno, perto do lúmen do canal radicular. A solução química NaOCl 2% apresentou comportamento semelhante ao Sterilox, associado ou não ao EDTA, promovendo desorganização superficial do colágeno em área menor. A desmineralização foi observada em todos os grupos em que o EDTA foi utilizado. No entanto, áreas de erosão e túbulos dentinários abertos foram detectados apenas quando foi combinado com NaOCl. Os autores concluíram que 5% de NaOCl promoveu o maior dano ao componente orgânico da dentina e, quando associado ao EDTA, observou-se erosão dentinária.

Frough-Reyhani *et al.* (2016), avaliaram a eficácia antimicrobiana de NaOCl a 1%, 2,5% e 5% na eliminação dos biofilmes de *E. faecalis* em diferentes estágios de desenvolvimento. Biofilmes de *E. faecalis* de 4, 6 e 10 semanas de idade foram submetidos a solução salina tamponada com fosfato, NaOCl a 1%, 2,5% e 5%. Foram selecionados 96 incisivos centrais superiores humanos, extraídos por

doenças periodontais. As coroas dos dentes foram removidas e os canais radiculares foram preparados usando a técnica crow-down, usando o sistema rotativo RaCe, como segue: # 40 / 0,10 para o terço coronal, # 35 / 0,08 para o terço médio e # 30 / 0,06 para preparação até a WL. Cada canal radicular foi lavado com soro fisiológico durante a instrumentação. Após instrumentação, utilizou-se solução de NaOCl a 5,25% durante 3 minutos, e em seguida cada raiz foi imersa em 1 mL de EDTA 7% durante 3 minutos, seguido por uma irrigação final com solução salina tamponada com fosfato. As amostras de dentes foram autoclavadas e transferidas para um tubo com BHI a 37 ° C durante 24 horas para se certificar da eficácia do procedimento de esterilização. Para a experiência com biofilme, preparou-se uma cultura pura de microorganismos e incubou-se a 37 ° C durante a noite sob CO₂ a 10%. Em seguida, as bactérias foram colhidas por centrifugação e suspensas. Em seguida, cada raiz foi colocada num tubo estéril contendo 2 mL de suspensão padrão de *E. faecalis*. Após 4, 6 e 10 semanas de crescimento do biofilme, as amostras de raiz foram selecionadas aleatoriamente e divididas em quatro grupos (n = 10), G1: solução salina tamponada com fosfato (controle); G2: NaOCl 5,25%; G3: NaOCl 2,5%; G4: NaOCl 1%, onde a solução permaneceu preenchida nos canais radiculares durante 10 minutos e após removida com pontas de papel estéril, e irrigada com solução salina normal. Os resultados mostraram que NaOCl 2,5% e 5% eliminaram completamente os biofilmes de *E. faecalis* nos três estágios de desenvolvimento, enquanto que NaOCl 1% resultou em diminuições de 85,73%, 81,88% e 78,62% durante 4, 6 e 10 semanas de idade, respectivamente, o que foi significativamente mais do que aqueles com solução salina tamponada com fosfato (p <0,05). Conclui-se que as

bactérias presentes em biofilmes maduros e antigos foram mais resistentes ao NaOCl 1% do que as bactérias presentes em biofilmes jovens. A taxa de sobrevivência global e as bactérias residuais aumentaram com o envelhecimento do biofilme.

Chaitanya *et al.* (2016), compararam a eficácia antibacteriana de morinda citrifolia e extrato de cúrcuma com NaOCl 3% como solução química auxiliar em tratamento endodôntico contra *E. faecalis* e *S. aureus*. A eficácia antimicrobiana foi avaliada *in vitro* utilizando o método de difusão de ágar. As placas de ágar foram preparadas usando BHI. Culturas de *E. faecalis* e *S. aureus* foram cultivadas em caldo nutriente a 37 ° C. As placas foram incubadas durante 24 horas a 37 ° C e as zonas microbianas de inibição foram registradas. Por fim, o NaOCl 3% apresentou maiores zonas de inibição contra os dois microorganismos. Concluiu-se que o NaOCl 3% apresentou atividade antibacteriana máxima contra *E. faecalis*, seguido de morinda citrifolia e extratos de cúrcuma. Considerando o potencial de propriedades indesejáveis de NaOCl, o uso de alternativa dessas outras substâncias em endodontia pode revelar-se vantajoso.

2.5.2 Hipoclorito de Cálcio

O íon Hipoclorito é amplamente utilizado para desinfecção de água. As fontes industriais mais populares de íon é o gás de cloro, NaOCl e Ca(ClO)₂, apresentadas em forma sólida, capaz de se decompor exotermicamente a temperaturas ambientes elevadas (SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE). O íon hipoclorito se forma pela dissolução molecular reagente em água e pode se degradar em íon cloreto e clorato (SU *et al.*, 2009).

Durante a decomposição, o Ca(OCl)_2 pode liberar oxigênio que pode atuar para acelerar o crescimento de um incêndio já presente ou aumentar a pressão de recipientes fechados (SU *et al.*, 2009). O Ca(OCl)_2 é constituído pelos sais de cálcio do ácido hipocloroso. É produzido pela dissolução de gás cloro (Cl_2) em uma solução de óxido de cálcio (CaO) e hidróxido de sódio (NaOH). O Ca(OCl)_2 é um sólido branco, que vem em forma de comprimido ou como um pó granular. É muito estável, e quando embalado corretamente, grandes quantidades podem ser comprados e armazenados até que seja necessário. O produto químico é corrosivo, portanto, requer manipulação adequada e precisa ser armazenado em uma área seca. Deve também ser mantido afastado da humidade porque os comprimidos / pó granular absorvem facilmente a humidade e formam gás (cloro) tóxico como resultado. Além disso, esse composto apresenta um odor de cloro muito forte (SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE). Seu poder de desinfecção em água é avaliado por meio de sua concentração, tempo e temperatura (SU *et al.*, 2009).

Quando o Ca(OCl)_2 é adicionado à água, o hipoclorito e os íons de cálcio são produzidos (SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE):



Em vez de diminuir o pH como gás de cloro faz, hipoclorito de cálcio aumenta o pH da água, tornando a água menos ácida. Como resultado, o Ca(OCl)_2 e o gás de cloro produzem o mesmo tipo de resíduos (SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE).

Por analogia com os trabalhos de hipoclorito de sódio, e ácido hipocloroso, a decomposição da fase aquosa de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ foi levantada a hipótese de proceder principalmente através do seguinte mecanismo (SU *et al.*, 2009):



O $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ é utilizado na indústria, na esterilização, branqueamento e tratamento de purificação de água (SHIH *et al.*, 1970). É utilizado principalmente no processo industrial de tratamento de água, como desinfecção de água de esgoto, tratamento de ar industrial, produção e tratamento dos gêneros alimentícios, oxidação de resíduos industriais e esterilização de equipamento médico por gás (TANEJA *et al.*, 2014).

O dióxido de cloro é quimicamente semelhante à de Hipoclorito, sendo bactericida, vericida e fungicida. Suas propriedades têm sido reconhecidas desde o início dos anos 1900, podendo ser provável substituto do NaOCl , por ser menos tóxico e irritante quando em contato com corpo humano (COBANKARA *et al.*, 2010).

A dissolução do tecido pulpar é uma exigência ideal de um irrigante endodôntico. NaOCl ioniza para libertar ácido hipocloroso (HOCl) e íons hidroxila em meio aquoso. A saponificação de neutralização de aminoácidos e reações de cloramina contribuem para a dissolução de tecido pulpar com a participação de íons hidroxilo nas duas primeiras reações e de HOCl na terceira (DUTTA e SAUNDERS, 2012).

$\text{Ca}(\text{ClO})_2$ foi estudado como substância utilizada para esterilizar bactérias presentes em leite (WHITTAKER e MOHLER, 1912). Essa substância é utilizada na área da Odontologia, como na Prótese, para desinfecção de modelos de gesso laboratoriais (TWOMEY *et al.*, 2003). Na Dentística, após o condicionamento ácido, quando aplicada à substância, aumenta a resistência à união dos materiais restauradores (BALBINOTT, 2009). Para dissolver matéria orgânica, o $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ apresenta menor dissolução quando comparado com NaOCl (DUTTA e SAUNDERS, 2012).

Twomey *et al.* (2003), avaliaram substâncias com propriedades de desinfecção, resistência a compressão e a tração, utilizadas em modelos de gesso laboratoriais infectados com *Bacillus subtilis*. Utilizou-se $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ em solução aquosa (de 0,5 a 1,5%), como agente desinfetante da pedra. Em geral, o efeito da adição do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ na pedra foi uma diminuição da força. Quando a solução foi adicionada a uma concentração de 0,5%, o gesso demonstrou propriedades mecânicas aceitáveis. Os autores concluíram que é possível preparar um modelo de gesso, tipo pedra V, que contém um desinfetante, mantendo propriedades mecânicas adequadas, e principalmente reduzindo o número de microorganismos residuais.

Dutta e Saunders (2012), compararam *in vitro*, as propriedades dos tecidos e a dissolução tecidual do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ (5 e 10%) e do NaOCl (1,36 e 4,65%) no tecido muscular bovino. A concentração de cloro livre de cada solução foi determinada utilizando titulação iodométrica. Dez amostras de tecido de músculo bovino foram padronizadas. As amostras foram imersas em 5 ml de cada solução de Ensaio. Após 5 minutos as amostras foram removidas, secadas com papel absorvente e

pesadas. O processo foi repetido a cada 5 minutos, com um novo 5 mL alíquota da solução de teste por 60 minutos ou até à dissolução completa do tecido, o que foi o mais rápido. A perda percentual das amostras foram calculadas ao longo do período experimental. Os resultados mostraram que a maioria das soluções de tecido completamente dissolveram após 60 minutos, com exceção do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 5%. Entre as leituras de teste de 35 e de 60 minutos, não houve diferenças significativas entre as soluções. NaOCl 4,65% dissolveu o tecido mais rápido durante os primeiros 35 minutos.

De Almeida *et al.* (2014), compararam *in vitro* a eficácia do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ e NaOCl associado à irrigação de ultrassom passiva em canais radiculares de dentes bovinos infectados com *E. faecalis*. Os canais radiculares de 60 dentes bovinos unirradiculares extraídos foram ampliadas até um instrumento #45, autoclavado (esterilizado), inoculados com *E. faecalis* e incubados por 30 dias. As amostras foram divididos em 6 grupos (n = 10) de acordo com o protocolo para a descontaminação: G1: sem tratamento; G2: água destilada; G3: NaOCl a 2,5%; G4: $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ de 2,5%; G5: NaOCl a 2,5% com ativação ultrassônica; e G6: $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ de 2,5%, com a ativação de ultrassom. Os testes microbiológicos (contagem de UFCs) foram realizados para avaliar e mostrar, respectivamente, a eficácia dos tratamentos propostos. Os dados foram submetidos à análise de uma via da variância, seguida do teste post hoc de Tukey (p = 0,05). Os resultados mostraram que os grupos 1 e 2 apresentaram maior média de contaminação (3,26 \log^{10} UFC / mL e 2,69 \log^{10} UFC / mL, respectivamente), o que foi estatisticamente diferente de todos os outros grupos (p < 0.05). Grupo 6 ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$ + Ultrassom) apresentou a menor contaminação média (1,00

log₁₀ UFC / mL), não havendo diferença estatisticamente significativa encontrada nos grupos 3 (NaOCl), 4 (Ca(ClO)₂), e 5 (NaOCl + ativação ultrassônica) (p < 0,05). Conclui-se que Ca(ClO)₂, bem como a irrigação de ultrassom passiva, pode auxiliar no preparo químico-mecânico, contribuindo de forma significativa para a redução do teor microbiano durante o tratamento do canal da raiz.

De Paula (2015), comparou a atividade antimicrobiana do NaOCl 2,5% e 5% com Ca(ClO)₂ 0,5%, 1%, 2,5% e 5%, contra *E. faecalis*, pelo método de difusão em ágar, onde o micro-organismo permaneceu em contato com as substâncias durante 15 seg, 30 seg, 1 min, 5 min e 10 min. Os halos de inibição foram mensurados e quantificados, onde o Ca(ClO)₂ 5%, apresentou mais eficiência, porém foi menor do grupo controle, a ampicilina. Ca(ClO)₂ 5% e NaOCl 5% não apresentaram diferenças estatísticas.

Sedigh-Shams *et al.* (2016), compararam a eficácia antimicrobiana do Ca(OCl)₂ e do NaOCl contra o *E. faecalis* através da análise quantitativa em tempo real da reação em cadeia da polimerase (PCR) e para a citocompatibilidade em fibroblastos utilizando ensaio de toxicidade com tetrazólio. Os irrigantes utilizados neste estudo foram NaOCl 5% (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EUA), que foi diluído a partir da sua concentração e Ca(OCl)₂ 10% (Star-Chlon, Japão) (pó de Ca(OCl)₂ foi misturado com água destilada utilizando um agitador magnético. O pH de cada solução foi avaliado usando um medidor de pH eletrônico. Realizaram teste de suscetibilidade à micro-diluição em caldo para definir a concentração inibitória mínima de cada solução irrigadora contra *E. faecalis*. 50 pré-molares inferiores humanos recém extraídos foram contaminados com *E. faecalis* e aleatoriamente divididos em três

grupos de acordo com o irrigante utilizado (n = 20), além de mais 10 amostras serem irrigadas com solução salina estéril. A avaliação antimicrobiana foi realizada antes e após o experimento. A PCR quantitativa foi utilizada para quantificar o *E. faecalis* nos canais radiculares. Para a avaliação da citocompatibilidade, os fibroblastos foram expostos as soluções irrigadoras. Obteve-se as UFCs para os resultados. O presente estudo forneceu novos dados sobre as propriedades do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ como irrigante endodôntico. Os resultados deste estudo indicaram que $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5% apresenta 0,5% da toxicidade do NaOCl, além de ser mais eficaz na eliminação de biofilmes de *E. faecalis*.

Dumani *et al.* (2016), compararam a eficácia *in vitro* do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ e NaOCl associado a irrigação ultrassônica em canais radiculares contaminados com *E. faecalis*. 84 pré-molares com apenas um canal foram instrumentados até um instrumento # 40, autoclavados, contaminados com *E. faecalis* e incubados durante 21 dias. Após este período as amostras foram divididas em 7 grupos de acordo com o protocolo de irrigação: G0: Nenhum tratamento; G1: água destilada; G2: NaOCl a 2,5%; G3: $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 2,5%; G4: água destilada com ativação sônica; G5: NaOCl a 2,5% com ativação sônica; e G6: $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 2,5% com ativação sônica. Antes e após os protocolos de descontaminação bacteriana, as UFCs foram contadas e o percentual de redução calculado. Os resultados obtidos mostraram que a água destilada irrigada com seringa normal e os grupos de ativação ultrassônica demonstraram efeito antibacteriano deficiente sobre o *E. faecali* quando comparados aos outros grupos experimentais ($p < 0,05$). No entanto não houve diferença estatisticamente significativa os sistemas de irrigação com $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ e

NaOCl. Concluiu-se que a irrigação com seringa convencional e a irrigação sônica foram eficazes na remoção de *E. faecalis*.

Leonardo *et al.* (2016), avaliaram o pH, o teor de cloro disponível e a tensão superficial das soluções de NaOCl e $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ armazenadas em diferentes condições e prazos. As concentrações testadas foram 0,5%, 1%, 2,5% e 5,25% armazenadas a 30, 60 e 90 dias a 25 ° C, 4 ° C e 37 ° C. A formação de um precipitado foi observada nas concentrações de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ a 2,5% e 5,25%. O $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ mostrou uma maior concentração de cloro disponível do que NaOCl. Tanto o NaOCl e o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ na concentração de 2,5% e 5,25% tiveram diminuição do teor de cloro disponível em soluções recém-preparadas. NaOCl a 0,5% e 1% apresentaram um pH mais baixo comparado ao $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ na mesma concentração. Porém o NaOCl, 5,25%, apresentou maior pH comparado ao $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5,25%. NaOCl e $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ nas concentrações de 0,5% e 1% tendem a mostrar um nível de pH reduzido, enquanto que soluções 2,5% e 5,25% apresentaram um aumento no pH. Acredita-se que o calor contribua para a instabilidade das soluções. As concentrações de NaOCl apresentaram valores menores de tensão superficial. Com isso os autores concluíram que as soluções de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ são extremamente alcalinas e tendem a ter um maior teor de cloro disponível que o NaOCl, mas têm uma tensão superficial maior que o NaOCl. Quanto ao teor de cloro disponível, se mantidas entre temperaturas de 4°C a 25°C, durante 30 dias, se apresentam estáveis.

Blattes *et al.* (2017), avaliaram a citotoxicidade e a reação inflamatória de fibroblastos de ratos quando cultivadas em soluções de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 1%, $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 2,5%, NaOCl 1%, NaOCl 2,5%, e solução salina 0,9%. Os fibroblastos 3T3 (ATCC CRL-1658) foram cultivados

durante 24 horas a 37 ° C, em atmosfera humidificada contendo 5% de CO₂ e semeados em uma placa de Petri de 35 mm. Foram utilizados 18 ratos com 18 semanas de vida. Os animais foram divididos em três grupos de seis ratos cada, de acordo com os três períodos experimentais: 2 h, 24 h e 14 dias. Os mesmos foram anestesiados e a pele dorsal dos animais foi raspada e limpa com uma solução de iodo a 10%. Foram desenhados círculos e com seringas descartáveis de insulina injectou-se 0,1 mL de cada solução subcutaneamente. Utilizou-se um grupo controle negativo sem irrigante. Após a conclusão do experimento, no ensaio *in vivo*, o grupo Ca(OCl)₂ 1% mostrou uma diminuição significativa nos neutrófilos às 2 h e 24 h (p = 0,041) e 2 h e 14 dias (p = 0,017). Observou-se o aparecimento de edema imediatamente após as injeções de NaOCl a 2,5% em alguns locais, contudo, a injeção de Ca(OCl)₂ não provocou esta resposta. No entanto, o edema foi transitório. No momento da eutanásia e após o exame histológico das amostras de tecido, não se observou edema. As soluções de Ca(OCl)₂ mostraram resultados aceitáveis em termos de migração celular, viabilidade e nível de resposta inflamatória. Portanto concluiu-se que o Ca(OCl)₂ apresentou resultados favoráveis de viabilidade e induziu uma resposta inflamatória de baixo nível, além de citotoxicidade aceitável e biocompatibilidade como solução irrigante.

2.5.3 Extrato de Semente de Uva

O ESU é um material contemporâneo que foi introduzido nas atividades odontológicas pelo fato de apresentar interferência benéfica no sistema de remineralização dental (XIE *et al.*, 2008), capacidade de

agregar a resistência de união dos materiais adesivos à dentina (AL-AMMAR *et al.*, 2009; CECCHIN *et al.*, 2015) e haver estudos recentes descrevendo a atividade antimicrobiana dessa substância (SHRESTHA *et al.*, 2012; GHONMODE *et al.*, 2013; CECCHIN *et al.*, 2015).

A uva é uma das frutas mais amplamente cultivadas em todo o planeta (BAYDAR *et al.*, 2006). Estudos minuciosos sobre a composição e as propriedades das uvas foram conduzidos, concluindo que apresentam grandes quantidades de compostos fenólicos (SOMERS e ZIEMELIS, 1985; OSZMIANSKI e LEE, 1990). Esses extratos contêm quantidades elevadas de compostos fenólicos monoméricos, tais como (+) - catequina, (-) - epicatequina e (-) - epicatequina-3-O-galato, e procianidinas diméricos, triméricos e tetraméricos, que desempenham ação antimutagênica e antiviral (SAITO *et al.*, 1998; BAYDAR *et al.*, 2006).

O ESU é um composto com cerca de 90% de PAs. A substância também é conceituada como taninos condensados (WU, 2009), facilmente detectado nas folhas, frutas, flores, sementes, castanhas e cascas de inúmeras plantas (SARNI-MANCHADO *et al.*, 1999) e são formadas por subunidades de flavan-3-ol unidas principalmente por ligações C4-C8 ou C(6) (CASTELLAN *et al.*, 2010). Estudos específicos sobre seus óleos essenciais e extratos contra bactérias patogênicas relevantes em seres humanos relataram a presença de atividade antimicrobiana (SOMERS e ZIEMELIS, 1985; OSZMIANSKI e LEE, 1990; SAITO *et al.*, 1998; OZKAN *et al.*, 2003; BAYDAR *et al.*, 2006).

O ESU tem sido abrangentemente empregado em dentina desmineralizada para aumentar suas propriedades mecânicas, estabilizar

a degradação de colágeno e diminuir a absorção de água (AGUIAR *et al.*, 2014; VIDAL *et al.*, 2014). O ESU pode ser utilizado como opção de solução irrigadora na Endodontia, pois não interfere no colágeno dentinário, preservando a qualidade do substrato da dentina, para obter um adequado selamento do canal radicular no momento da obturação e posteriormente para a restauração à base de resina composta. Dentes com raízes finas ou rizogênese incompleta seriam beneficiados pelo uso do ESU, devido à baixa citotoxicidade (BAGCHI *et al.*, 2000).

Estudos sobre a atividade antimicrobiana do GSE são escassos na literatura. Porém relatos dessa substância para diminuir bactérias presentes na cavidade oral foram descritos. Baydar *et al.* (2006), testaram as atividades antibacterianas dos extratos de sementes de três uvas diferentes, concentrações 1%, 2,5%, 5% e 10%, contra quinze bactérias (*Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *E. faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Yersinia enterocolitica*) e os conteúdos fenólicos totais dos extratos foram adicionalmente determinados. Todas as bactérias testadas foram inibidas pelos extractos de sementes de uva utilizando o método de difusão de ágar-ágar. Os resultados revelaram que todas as concentrações foram eficazes para as bactérias testadas.

O consumo de produtos alimentares é uma fonte potencial das infecções de origem alimentar ocasionada por *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, e *Escherichia coli*. Por isso, Gadang *et al.* (2008), avaliaram a eficácia da proteína do soro de leite revestida com

ESU, ácido tetra-acético (EDTA) e suas combinações para inibir o crescimento das bactérias. Pedacos de peito de peru previamente inoculados foram mergulhados em soluções de formação de biofilme, ambos com e sem a adição de agentes antimicrobianos (ESU, ácido málico, ou nisina e EDTA, ou combinações). As amostras foram armazenadas a 4°C por 28 dias. A população de *L. monocytogenes* diminuiu para 2,3 log /g após 28 dias a 4°C nas amostras contendo nisina combinado com ESU (0,5%) e ácido málico (1,0%). Os resultados demonstraram que a utilização de um revestimento comestível contendo nisina, ácidos orgânicos, e extratos naturais é um meio promissor para controlar o crescimento e a recontaminação de *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* e *E. coli* em produtos de aves utilizados para alimentação.

Brown *et al.* (2009), investigaram os efeitos de vários ESU contra o *Helicobacter pylori* e determinaram a correlação entre *anti-H. pylori* e o conteúdo de atividade do extrato. Os resultados indicaram que os ESUs e compostos puros têm efeitos significativos, mas diferentes contra o crescimento de *H. pylori*. Extrato de pele de uva Muscadine foi mais eficaz, seguido por sementes muscadine e extratos de sinergia (pele e sementes). O resveratrol e ácido elágico também inibiu a *H. pylori*, no entanto, não teve qualquer efeito microbiano e não foi testado adicionalmente. Portanto os autores sugerem que os anticorpos *anti-H. pylori* não necessariamente se correlacionam com maior teor de compostos fenólicos como se pensava anteriormente necessitando de estudos *in vivo* dos extratos de uva e compostos constituintes para uso na gestão dietética de infecção por *H. pylori*.

Al-habib *et al.* (2010), averiguaram a atividade antimicrobiana do ESU para a bactéria *Staphylococcus aureus* por ser resistente a metilina.

Em todas as amostras o ESU inibiu o crescimento bacteriano, principalmente quando utilizado na concentração de 3 mg/ml sendo capaz de promover uma inibição total do *S. aureus*.

Kao *et al.* (2010), descobriram que o ESU, um produto alimentar natural rico em polifenóis, inibe a atividade e crescimento de *S. aureus* que é um dos agentes patogênicos mais comuns que causam doenças infecciosas de origem alimentar e em todo o mundo. Em conclusão, descobriram que ESU inibe o crescimento de *S. aureus* podendo servir como uma alternativa natural eficaz para o controle de intoxicação alimentar causada pela bactéria com medida de segurança adequada. Esta inibição foi, pelo menos, em parte devido à inibição da atividade de diidrofolato reductase, levando à diminuição do nível intracelular de tetrahidrofolato em *S. aureus*. Também houve redução da resposta inflamatória.

Furiga *et al.* (2016), investigaram os efeitos preventivos de uma combinação original de ESU associado ao fluoreto de amina sobre a formação de placa bacteriana e os danos oxidativos causados por bactérias orais. A atividade antibacteriana dos compostos foi avaliada utilizando o método de macrodiluição do caldo. Já a atividade antiplaca foi avaliada em um biofilme multiespecífico cultivado em discos de hidroxiapatita revestida com saliva. A combinação de 2000 µg ml de ml⁻¹ de ESU com 10,2 mg ml⁻¹ de fluoreto diminui significativamente a formação de biofilme. A atividade antioxidante desta combinação, isoladamente ou incorporado num enxaguatório bucal manipulado, foi determinado usando o teste de capacidade antioxidante equivalente e ambos mostraram significativamente maior capacidade antioxidante. Concluiu-se que a combinação de ESU e fluoreto de amina apresentam

atividade antibacteriana e uma importante capacidade antioxidante *in vitro*, sem efeitos bactericidas.

Cecchin *et al.* (2015), avaliaram o efeito do ESU, NaOCl, CHX e QMix, como agentes antimicrobianos contra *E. faecalis* e a influência dessas substâncias na dentina radicular quanto a resistência à tração e à flexão final. Cinquenta e cinco dentes humanos extraídos com raiz única e ápices completamente formados sem nenhum sinal de reabsorção foram selecionados para o estudo. As coroas foram seccionadas para obter 15 mm de comprimento de raízes, que foi reduzida mais 1 mm para o comprimento de trabalho. O terço cervical foi preparado com brocas Largo #2 e #3. Para a preparação da bactéria, a estirpe de referência foi *E. faecalis* (ATCC 19433). Após o período final de contaminação, cinquenta amostras foram irrigadas com 5 ml de água destilada e distribuídas em cinco grupos (n = 10) de acordo com as substâncias utilizadas: NaOCl 2,5%, CHX 2%, ESU 6,5%, Qmix e grupo controle (água destilada). A irrigação final foi feita com EDTA 17% em todos os grupos, exceto quando água destilada foi utilizada. Após os respectivos tratamentos, o canal da raiz de cada espécime foi cheio com solução salina estéril. Em seguida, um instrumento estéril tipo K #60 foi inserida no canal da raiz, para a agitação da solução em contato com as paredes dos canais por um período de 30 s. O número de unidades formadoras de colônias foi utilizado para avaliar a atividade antimicrobiana. Feixes de dentina foram usados para avaliar a resistência à flexão após o tratamento com substâncias. Os autores concluíram que a menor contaminação bacteriana foi observada para CHX e ESU, enquanto NaOCl e QMix mostrou uma atividade antimicrobiana intermédia ($p > 0,05$). NaOCl e QMix reduziu significativamente as propriedades

mecânicas da dentina (resistência à flexão e teste de resistência à tração) ($p < 0,05$) e não houve diferença estatística encontrada entre CHX, ESU e água destilada ($p > 0,05$). Concluíram que CHX e ESU foram mais eficazes do que NaOCl e QMix contra *E. faecalis*. Além disso, eles não prejudicaram as propriedades mecânicas da dentina como observado para NaOCl e QMix. O significado clínico para isso é que o uso de ESU pode ser recomendado para procedimentos de endodontia uma vez que tem uma boa atividade antimicrobiana e não interfere nas propriedades mecânicas da dentina, da mesma forma para CHX.

D'Aviz (2015), avaliou a redução bacteriana em 50 raízes disto-vestibulares de molares superiores contaminadas com *E. faecalis* utilizando os instrumentos rotatório Mtwo 40/04 e reciprocante Reciproc R25 e as soluções irrigadoras NaOCl 5,25%, ESU 6,5% , CHX gel 2%, associados ao uso de EDTA 17%, e soro fisiológico como solução controle. Os resultados revelaram que não houve diferença estatística significativa para as técnicas de instrumentação. Para as soluções irrigadoras, o NaOCl se mostrou superior à CHX, e o ESU foi compatível com os resultados do soro fisiológico. Conclui-se que NaOCl foi a substância que apresentou a maior descontaminação de canais radiculares.

ESU tem a capacidade de liberar fator de crescimento endotelial e sua aplicação tópica apresentaram resultados na contração e fechamento da ferida pele. Além disso, ela possui propriedades antioxidantes e antibacterianas. Devido a isso, Hemmati *et al.*(2015), avaliaram o efeito de cremes à base de plantas em lesões da pele humana. Foi realizado um ensaio clínico duplo-cego em dois grupos de tratamento e placebo. Um dos tratamentos foi à base de creme de ESU a 2%. A cirurgia foi

realizada em lesões de pele, tais como marcas na pele em regiões moles que foram encontrados no pescoço, tronco e membros (exceto para o rosto). Após a inscrição e obtenção de consentimento informado dos participantes, eles foram divididos aleatoriamente em dois grupos de tratamento e placebo. As excisões das lesões foram feitas por tesouras cirúrgicas e cicatrizadas pelo método de segunda intenção. Após o primeiro dia de tratamento, os pacientes foram visitados no terceiro, sétimo, décimo, quadragésimo quarto e vigésimo primeiro dia. Os resultados mostraram reparação completa das feridas no oitavo dia para o grupo de tratamento e no quadragésimo quarto dia para o grupo do placebo, que foi claramente significativo em termos de diferença estatística ($p = 0,00$). Os autores concluíram que Proantocidinas presente no ESU desencadeiam a liberação do fator de crescimento endotelial vascular e suas causas de aplicação tópica contraem a ferida causando a cicatrização. Lesões de cura da pele com ESU causou áreas de proliferação com fronteiras protegidas no epitélio, o aumento da densidade celular e aumento da deposição de tecido conjuntivo no local da ferida que, em geral, melhora a estrutura celular da ferida. Além disso, as suas propriedades anti-inflamatórias e anti-microbianas são eficazes na cura de feridas.

O ESU e outras plantas medicinais vêm sendo estudado na área da Odontologia por propriedades terapêuticas e atividade antimicrobiana contra diversos micro-organismos, entre eles o *Streptococcus mutans* tem sido indicado como micro-organismo primário que causador de cáries dentárias em seres humanos. Por isso Swadas *et al.* (2016), avaliaram e compararam a atividade antibacteriana do ESU, em diferentes concentrações, com a clorexidina contra *S. mutans*. As

sementes de uva foram extraídas com etanol e água. À estirpe de *S. mutans* foi inoculada em meio ágar e incubadas durante 48 horas a 37°. Os grupos testados foram: G1: água pura (veículo - controle negativo), G2: ESU 500 mg/mL, G3: ESU 250 mg/mL, G4: ESU 125 mg/mL, G5: CHX 2% (controle positivo). Trinta e cinco tubos (5 grupos) foram preparados contendo diluições dos compostos de teste e incubou-se a 37 ° C durante 48 horas. Após o período de incubação das soluções na bactéria, as UFCs foram contadas. Os resultados mostraram que embora o ESU 500 mg/mL apresenta uma grande quantidade de efeito antibacteriano, observou-se um efeito maior no grupo da CHX 2%.

Souza *et al.* (2016), avaliaram a eficácia de protocolos de descontaminação radicular contra *E. faecalis* e a influência dessas substâncias na resistência adesiva à dentina do material obturador. Noventa dentes de raízes única tiveram suas coroas seccionadas de modo que todas as raízes fossem padronizadas a 15 mm. Todas as raízes foram preparadas utilizando o mesmo protocolo para remover o tecido pulpar e padronizar o diâmetro do canal. O terço cervical foi preparado utilizando a broca Largo # 3. As raízes foram alargadas ao comprimento de trabalho utilizando o sistema ProTaper Universal, seguindo a sequência S1, S2, F1, F2 e F3. Utilizou-se NaOCl a 2,5% como substância auxiliar química e renovou-se com cada mudança de instrumento e irrigação final com 3 mL de EDTA a 17% durante 1 min, seguido de irrigação com 5 mL de água destilada para remoção da camada de esfregaço. Para a primeira parte do estudo sessenta raízes foram esterilizadas a 120 ° C em autoclave e inoculadas com *E. faecalis* por 15 dias. Após o período de contaminação, as 60 amostras foram irrigadas com 5 mL de água destilada e distribuídas aleatoriamente em seis grupos (n = 10) de acordo

com o procedimento de descontaminação: G1: água destilada (controle), G2: CHX 2%, G3: QMix, G4: ESU 6,5%, G5: terapia fotodinâmica com Fibra ótica e G6: terapia fotodinâmica sem fibra ótica. A porcentagem de redução bacteriana foi verificada por contagem de UFC. As 30 raízes separadas no início do estudo foram submetidas aos mesmos protocolos de descontaminação (n = 5), obturadas com guta-percha cimento endodôntico AH Plus para realizar o teste *push-out*. O estudo mostrou que a maior redução bacteriana foi observada para o grupo da CHX 2%, QMix e ESU 6,5%, sem diferença estatisticamente significativa entre eles. A terapia fotodinâmica, com e sem fibra ótica, demonstrou uma redução significativamente maior do que a água destilada, sem diferença estatisticamente significativa entre eles (p <0,05). Para o teste *push-out*, os protocolos de descontaminação final mostraram valores de resistência de união semelhantes (p <0,05), com a maior incidência de falha coesiva em todos os grupos. Os autores concluíram que os protocolos de descontaminação testados mostraram eficácia contra *E. faecalis* e não interferiram com a resistência adesiva à dentina do canal radicular do material obturador utilizado.

3. PROPOSIÇÃO

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a redução microbiana em canais radiculares de molares inferiores contaminados com *E. faecalis* utilizando diferentes substâncias químicas auxiliares e técnicas de instrumentação.

3.2 Objetivos Específicos

1- Avaliar a redução microbiana promovida pelo instrumento reciprocante Reciproc R25 associado às diferentes soluções químicas auxiliares (ESU, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ e NaOCl).

2- Mensurar a redução microbiana promovida pelo instrumento rotatório ProTaper Next associado às diferentes soluções químicas auxiliares (ESU, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ e NaOCl).

3- Determinar o efeito antimicrobiano da solução irrigadora NaOCl a 6% e investigar o potencial antimicrobiano do ESU 50% e do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 6% contra o *E. faecalis* associado aos instrumentos rotatório e reciprocante.

Serão testadas as hipóteses de que (1): as diferentes substâncias químicas auxiliares terão a mesma atividade antimicrobiana e (2) os

instrumentos R25 e ProTaper Next terão a mesma capacidade de reduzir a quantidade de *E. Faecalis* de canais radiculares.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo

O presente trabalho é um estudo laboratorial experimental. Um estudo piloto foi proposto para determinar a atividade antimicrobiana das substâncias químicas auxiliares ESU (Mega-Natural, Madera, CA, USA) 10%; ESU 30%; ESU 50%, NaOCl 6% (Natupharma, Passo Fundo, RS, Brasil), $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 2,5% (Lírios, São Vicente, SP, Brasil) e $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 6%, contra *E. faecalis* (American Type Culture Collection 19433), através de demarcação de halos de inibição por meio do teste de difusão em ágar.

Determinada as concentrações a serem novamente testadas, realizou-se o teste de atividade antimicrobiana, com o mesmo micro-organismo, examinando os instrumentos ProTaper Next (Dentsply, Maillefer, Ballaiques, Suíça) e Reciproc R25 (VDW, GmbH, Munique, Alemanha), utilizando com as substância química auxiliar o ESU 50%, NaOCl 6%, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 6%, e Soro Fisiológico 0,9% (Eurofarma, Ribeirão Preto, SP, Brasil) como controle.

Utilizou-se raízes mesio-vestibulares de primeiros molares inferiores doadas pelo Banco de Dentes da Universidade de Passo Fundo, Faculdade de Odontologia. Após a contaminação das raízes com *E. faecalis*, UFCs foram coletadas antes e após a instrumentação e irrigação e mensuradas para avaliar a eficácia dos protocolos clínicos.

4.2 Estudo piloto

Foi realizado um estudo piloto anteriormente à análise de técnicas e substâncias utilizadas para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares. Neste, foi avaliada a atividade antimicrobiana das seguintes substâncias: ESU 10%; ESU 30%; ESU 50%, NaOCl 6%, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 2,5% e $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 6% pela técnica de disco difusão em ágar através do método do contato direto, verificando sua eficácia contra cepas de *E. faecalis* (American Type Culture Collection 19433). Os discos utilizados foram brancos para antibiograma puro (sem antibiótico), esterilizados por autoclavagem (Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda., Pinhais, PR, Brasil) (Figura 4).

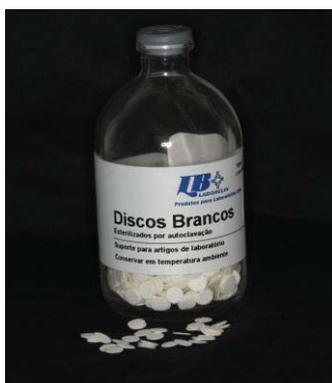


Figura 4 - Discos Brancos esterilizados por autoclavagem

A atividade ocorreu nas dependências do laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo.

4.2.1 Preparo do Inóculo

O disco da cepa de *E. faecalis* foi semeado em placa Petri, contendo meio de cultura PCA (ágar padrão para contagem), durante 24h a uma temperatura de 37°C no laboratório de Microbiologia da Faculdade de Farmácia, na Universidade de Passo Fundo. A placa de PCA com a bactéria foi encaminhada para o Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas.

A cepa de *E. faecalis* que foi utilizada teve sua pureza testada em uma placa de PCA por meio da técnica de esgotamento e foi ativada em BHI (*Brain Heart Infusion Broth*), composto por nutrientes de cérebro e coração de gado, peptona e dextrose.

A incubação ocorreu pelo mesmo período e temperatura descrita anteriormente. Em seguida o inóculo foi padronizado em relação a sua quantidade bacteriana existente, através de comparação com o tubo 1 da escala de McFarland, correspondente a 3×10^8 UFC/ml.

4.2.2 Preparação das substâncias

O NaOCl 6% foi manipulado pela farmácia de manipulação Natupharma, Passo Fundo, RS, Brasil.

As concentrações de ESU (Mega-Natural, Madera, CA, USA) 10%, 30%, 50% e $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, (Lírios, São Vicente, SP, Brasil) 2,5% e 6%, foram manipuladas a partir de seus grânulos, onde a matéria prima das substâncias foi diluída em água destilada obtendo-se as concentrações desejadas no laboratório de Química da Universidade de Passo Fundo. Concentrações diferentes foram preparadas na relação

peso/volume e misturadas utilizando um agitador magnético durante 10 minutos.

4.2.3 Semeadura em Placas

Foram utilizadas doze placas de Petri de 90mm para semeadura (n = 10). A técnica utilizada foi à mesma já descrita em estudos anteriores. O meio de cultura das placas foi PCA, com aproximadamente 5mm de espessura. Foram utilizados em cada placa 5 discos.

Com auxílio de um *swab*, o mesmo foi mergulhado no inóculo de BHI contendo a cepa bacteriana, comprimido nas paredes do tubo para retirar de excessos e realizou-se a semeadura em quatro sentidos diferentes e em torno da borda da placa, isto para garantir que todo meio fosse semeado.

4.2.4 Aplicação dos Discos

Os discos permaneceram na geladeira até 2h antes de sua utilização. Logo após a semeadura, aguardou-se 5 minutos para que o meio secasse em temperatura ambiente e conseguisse absorver o inóculo antes de aplicar os discos.

Cada substância testada permaneceu contida em um tubo de *ependorf* estéril até ser utilizada. Após 5 minutos, com o auxílio de uma pinça clínica para algodão estéril (Colgran, São Caetano do Sul, SP, Brasil), o disco de antibiograma foi previamente embebido na substância durante 10 segundos, retirado e aguardado 30 segundos para colocar na placa.

Quando terminada a colocação dos discos, a placa foi fechada e mantida em estufa bacteriológica aeróbia durante 24h numa temperatura de 37°C. Os primeiros 15 minutos as placas permaneceram incubadas invertidas, para que os discos não deslocassem, e em seguida viradas com a tampa para baixo, a fim de evitar acúmulo de gotículas na tampa, interferindo no meio de cultura (Figura 5).

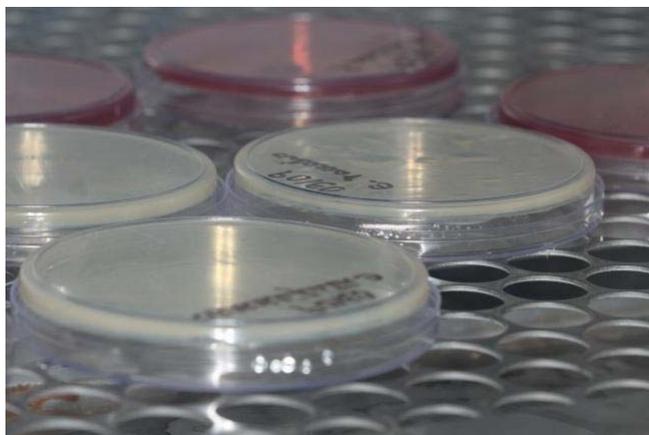


Figura 5- Posição das placas de petri invertida, contendo os discos de antibiograma, dentro da estufa bacteriológica

4.2.5 Avaliação Microbiológica

Após 24h, as placas foram retiradas da estufa, e realizadas a mensuração dos halos de inibição pelas substâncias com o auxílio de um paquímetro digital (Vonder Paquímetro Eletrônico Digital, Curitiba, PR, Brasil).

Todas as placas foram interpretadas com auxílio de uma fonte de luz. Os halos foram considerados a partir do ponto que não foi observado crescimento bacteriano a olho nu (Figura 6).

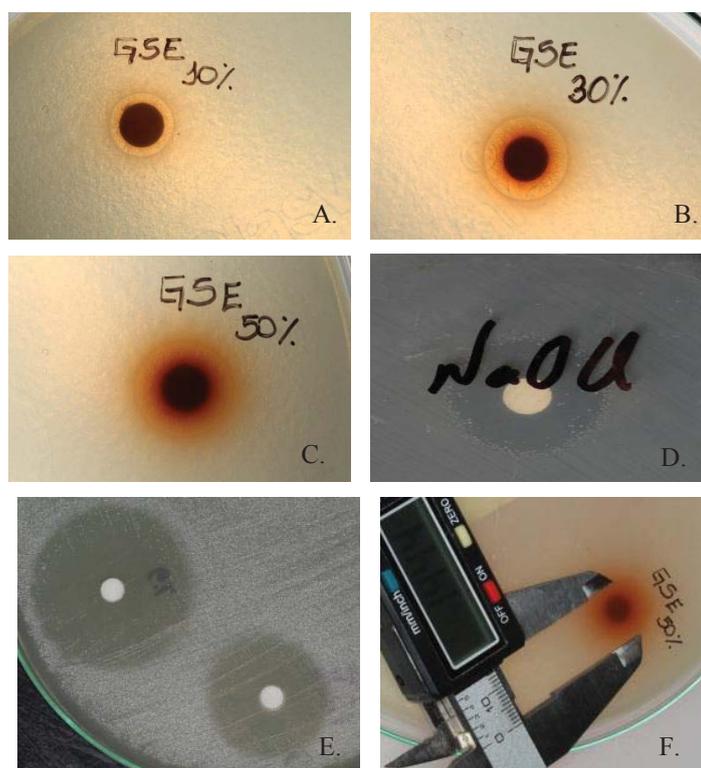


Figura 6 - Análise dos halos de inibição formados ao redor dos discos de antibiograma contendo soluções irrigadoras. A: Halo de inibição da solução ESU 10%. B: Halo de inibição da solução ESU 30%. C: Halo de inibição da solução ESU 50%. D: Halo de inibição da solução NaOCl 6%. E: (I) Halo de inibição da solução $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 2,5%; (II) Halo de inibição da solução $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 6%. F: Medição do halo de inibição utilizando Parquímetro digital

4.3 Análise de técnicas e substâncias utilizadas para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares

4.3.1 Seleção dos dentes

Foram utilizados 96 primeiros molares inferiores humanos obtidos do banco de dentes da Faculdade de Odontologia após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Passo Fundo (Apêndice 1). Para os dentes serem incluídos no estudo as raízes mesiais deveriam apresentar ápice fechado, presença de patência apical, ausência de reabsorções e qualquer tipo de preparo do canal. Além disso, foram utilizadas apenas raízes mesiais que apresentassem diâmetro anatômico apical compatível com lima #10.

As raízes foram selecionadas conforme o método Schneider (1971), com ângulo de 10° a 20°, classificado como curvatura moderada (Figura 7A). Esses critérios foram analisados com o auxílio de imagens radiográficas (Figura 7B).

Foram utilizadas para análise da curvatura radicular: negatoscópio slim led (Essence Dental VH, Araraquara, SP, Brasil), papel manteiga, régua transferidora e lápis para marcação. O papel foi posicionado em cima da imagem radiográfica e traçado uma linha com a régua reta da embocadura do canal mesial até o início da curvatura, seguindo com outra linha paralela até o ápice da raiz. O ângulo agudo formado com essas linhas foi medido com a régua transferidora, determinando o grau de curvatura de cada raiz (Figura 7C).

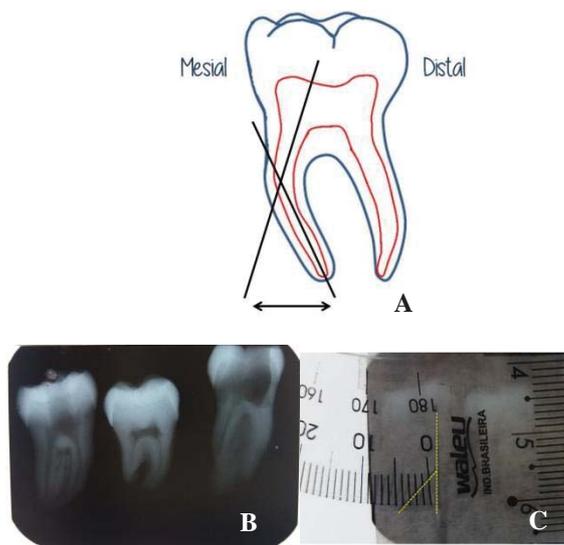


Figura 7 – Método de avaliação da curvatura das raízes. A: Desenho simbolizando a definição da curvatura. B: Imagem radiográfica da avaliação inicial mostrando a diferença entre dentes, conforme os padrões solicitados para inclusão no estudo. C: Com sobreposição de papel manteiga sobre a imagem radiográfica, linhas foram traçadas para determinar o grau de curvatura de cada dente, com o auxílio de régua compasso.

4.3.2 Micro-organismo

Para este estudo foi utilizado o *E. faecalis* (ATCC 19433).

4.3.3 Meio de cultura

BHI – *Brain Heart Infusion Broth* – (Oxoid, Unipath Ltd, Basingstoke, UK).

4.3.4 Soluções Químicas Auxiliares

NaOCl 6% (Natupharma, Passo Fundo, RS, Brasil).

ESU 50% (Mega-Natural, Madera, CA, USA).

Ca(ClO)₂ 6% (Lírios, São Vicente, SP, Brasil).

Soro Fisiológico 0,9% (Eurofarma, Ribeirão Preto, SP, Brasil) – grupo controle.

O NaOCl 6% foi manipulado pela farmácia de manipulação Natupharma, Passo Fundo, RS, Brasil. Para o ESU e Ca(ClO)₂, a matéria prima das substâncias foi diluída em água destilada obtendo-se 50% e 6%, respectivamente, no laboratório de Química da Universidade de Passo Fundo (Figura 8), conforme descrito anteriormente. O soro fisiológico 0,9% foi despejado em Becker de vidro e esterilizado na autoclave para ser utilizado.



Figura 8 - Apresentação Comercial das Soluções Químicas Auxiliares. A: Ca(ClO)₂ (Lírios, São Vicente, SP, Brasil). B: ESU (Mega-Natural, Madera, CA, USA)

4.3.5 Instrumentos

Os instrumentos de escolha foram o instrumento Rotatório ProTaper Next (Dentsply, Maillefer, Ballaiques, Suíça) e o instrumento Reciprocante Reciproc R25 (VDW, GmbH, Munique, Alemanha), por apresentarem cinemática diferente, com instrumentos reduzidos, no caso do ProTaper NEXT e pelo fato do Reciproc R25 ser instrumento de uso único, diminuindo assim o tempo de trabalho.

4.4 Métodos

4.4.1 Preparo das raízes

Depois de extraídos, os dentes foram armazenados em solução de tímolo 0,5% e lavados 24 horas antes de sua utilização. Utilizando um paquímetro digital (Vonder Paquímetro Eletrônico Digital, Curitiba, PR, Brasil) e caneta para retroprojektor (Pilot S.A., São Paulo, SP, Brasil) os dentes foram marcados a 15 mm acima do ápice radicular e as coroas seccionadas com um disco diamantado dupla face (#911H; Brasseler, Savannah, GA) em 300 rpm sob refrigeração de água para que todas as raízes ficassem padronizadas a 15 mm de comprimento. O comprimento de trabalho foi estabelecido através da introdução de um K-file # 10 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) (Figura 9.A), no canal até que sua ponta fosse visualizada no forame apical. A partir desta medida foi estabelecido o comprimento de trabalho. Foi utilizada irrigação com água destilada (Decloquimis, São Paulo, SP, Brasil).

Logo após, selou-se os ápices radiculares com Resina Composta (3M ESPE; St. Paul, MN, USA) (Figura 9.B) e aplicou-se Cianocrilato (Loctite, Itapeva, São Paulo, Brasil) (Figura 9.C) em toda a extensão da raiz. Finalizada essa etapa, as raízes foram acomodadas com sua porção cervical para cima em um silicone laboratorial Zetalabor (Zhermack Spa, Badia Polenesia, Rivogo, Itália), esta preenchida em microtubos de eppendorf (Odeme, Joaçaba, Santa Catarina, Brasil), sendo um tubo para cada raiz (Figura 9.G). Todas as raízes foram esterilizadas em autoclave (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) por um período de 30 minutos a 120°C.

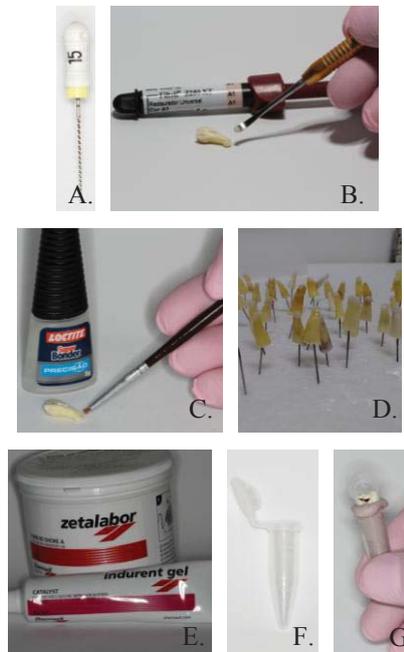


Figura 9 - Preparo das raízes. A: Determinação do comprimento de trabalho com limas K-file #15. B: Selamento dos ápices radiculares com Resina Composta. C: Aplicação de Cianoacrilato em toda a extensão da raiz. D: Armazenamento das raízes até a secagem do cianoacrilato. Utilizaram-se alfinetes com cabeças para baixo, fixadas em uma cartela de isopor. E: Silicone laboratorial Zetalabor. F: Microtubos de eppendorf. G: Raízes acomodadas com sua porção cervical para cima em silicone laboratorial dentro de microtubos de eppendorf

4.4.2 Controle de esterilização

Um dente de cada grupo foi escolhido aleatoriamente para o controle de esterilização. Cone de papel absorvente estéril (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) foi introduzido no canal radicular e permaneceu em contato com as paredes durante 15 segundos. Após foi transportado individualmente para um eppendorf de plástico (Odeme, Joaçaba, Santa Catarina, Brasil) contendo 1 ml de solução salina 0,9% (Basso, Caxias do Sul, RS, Brasil).

Depois de o material ser homogeneizado, 5 gotas de 15 µl de solução salina foi cultivada em ágar de sangue. Para verificar o crescimento bacteriano, as amostras foram incubadas durante 48 horas a 37°. Após 48 horas as amostras não apresentaram crescimento bacteriano e as 8 raízes foram descartadas

4.4.3 Preparação das Bactérias e Contaminação

A preparação do caldo contendo *E. faecalis* e a contaminação das raízes foi realizadas de acordo com De Almeida *et al.* (2014).

Para este experimento utilizou-se *E. faecalis* (American Type Collection 19433) (Figura 10.A), preparado no laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo. O disco contendo a cepa de *E. faecalis* foi ativado em BHI (Figura 10.B) e incubado durante 24h a uma temperatura de 37°C (Figura 10.C). Após este período o inóculo foi padronizado em relação a sua quantidade bacteriana existente, através de comparação com o tubo 1

da escala de McFarland (Figura 10.D), correspondente a 3×10^8 UFC/ml.

Oitenta e oitenta raízes foram contaminadas com 100 μ L da cultura de *E. faecalis* em BHI estéril, incorporado com uso de pipeta (Figura 10.E), no canal radicular de modo que todo o conduto ficasse cheio com o meio de cultura. Este procedimento foi repetido a cada 48 horas para renovação do meio de cultura durante 21 dias.

Todos esses procedimentos foram realizados sob condições assépticas dentro da câmara de fluxo laminar (Figura 10.F) no laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo, seguindo os padrões de biossegurança.

Ao término de cada semana de contaminação foram realizados testes de coloração de Gram e culturas em ágar sangue (Figura 10.G), seguido do teste da catalase e esculina para verificar a ausência de outros micro-organismos além de *E. faecalis* (Figura 10).

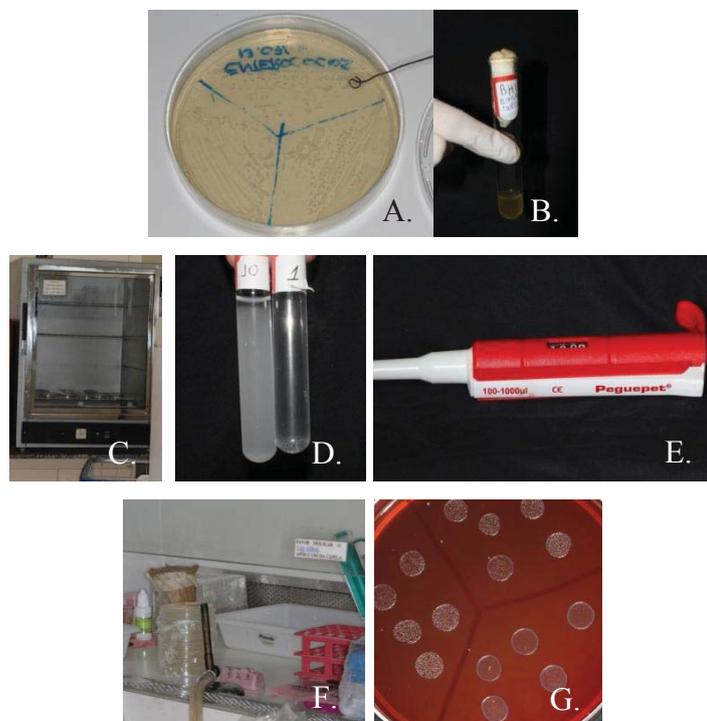


Figura 10 - Preparação e Contaminação das Raízes. A: *E. faecalis* (American Type Collection 19433). B: A cepa de *E. faecalis* ativada em BHI. C: Estufa Bacteriológica. D: Padronização em relação a sua quantidade bacteriana existente, através de comparação com o tubo 1 da escala de McFarland, correspondente a 3×10^8 UFC/ml. E: Pipeta utilizada para contaminar com $100 \mu\text{L}$ da cultura de *E. faecalis* o interior dos canais radiculares. F: Procedimentos realizados sob condições assépticas dentro da câmara de fluxo laminar. G: Teste de coloração de Gram e culturas em ágar sangue

4.4.4 Análise Microbiológica Inicial

Antes dos tratamentos específicos, a cada 48 horas o canal radicular de cada amostra foi analisado com cone de papel absorvente

estéril #15 (Tanari, Manacapuru, Amazonas, Brasil) (Figura 12.B) introduzido no canal durante 30 segundos. Logo, as pontas de papel foram levadas para um microtubo (Odeme, Joaçaba, Santa Catarina, Brasil) (Figura 12.C), contendo 1000 µL de solução salina estéril a 0,9%. A solução foi homogeneizada e diluída em série até 10^{-4} . 75 µL dessa solução foram utilizadas para semeadura (Figura 11). Utilizaram-se placas de Petry contendo PCA (Ágar Padrão para Contagem). Por meio da técnica de gota, utilizando pipetas, 5 gotas de 15 µL de cada concentração foram colocadas na placa e incubadas por 48 horas. Os primeiros 15 minutos as placas permaneceram incubadas invertidas, como descritas anteriormente no trabalho piloto.

Posterior ao tempo de incubação, para avaliar a contaminação inicial, foi feita a contagem de UFCs (unidades formadoras de colônias). O procedimento de contagem foi repetido 3 vezes em cada placa de Petry pelo mesmo operador e uma vez por outro observador calibrado para o procedimento, para certificar a contagem de UFCs.

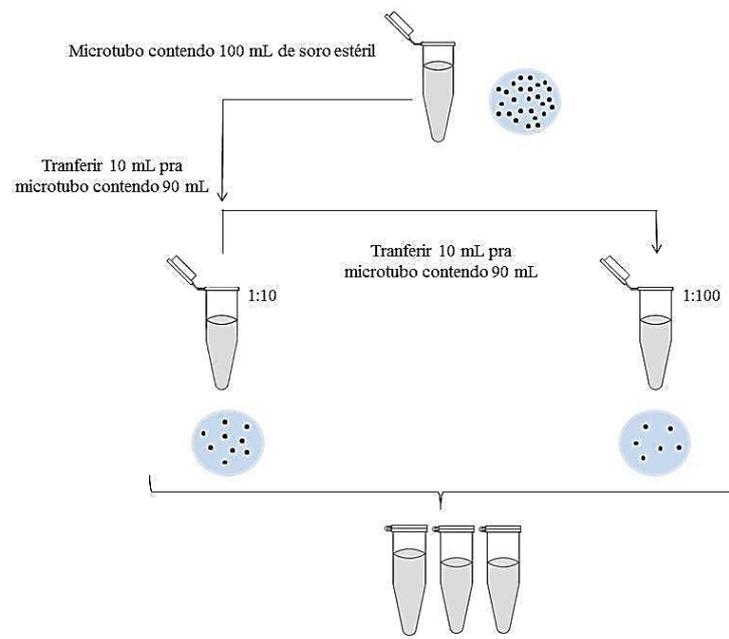


Figura 11 - Solução homogeneizada e diluída em série até 10^{-4} . 75 μ L para realizar a semeadura
Fonte: O autor.

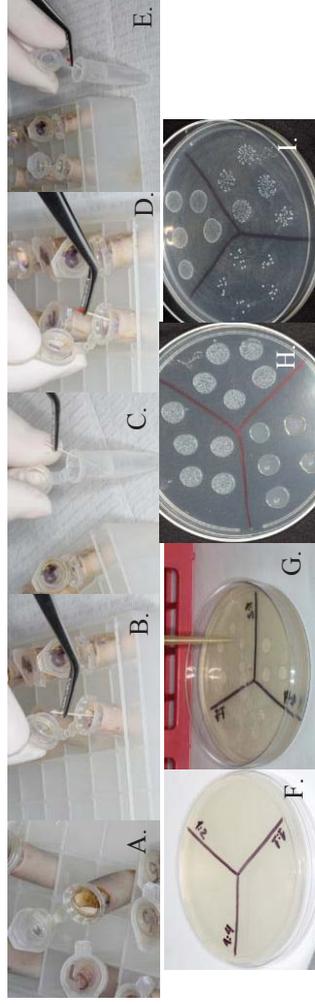


Figura 12 - Análise Microbiológica dos canais radiculares. A: Raiz Contaminada com a bactéria *E. faecalis*. B: Análise Microbiológica Inicial com cone de papel absorvente estéril #15. C: Cone de papel absorvente estéril #15 levado ao microtubo para ser homogeneizado e diluído. D: Análise Microbiológica Final com cone de papel absorvente estéril #25. E: Cone de papel absorvente estéril #25 levado ao microtubo. F: Divisão da placa de Petri conforme as diluições em série até 10^{-4} . G: Cada diluição recebeu 5 gotas de $15 \mu\text{L}$. H: UFCs – contagem inicial. I: UFCs – contagem final

4.4.5 Divisão dos grupos

Após o período de contaminação as 88 amostras foram aleatoriamente divididas em 2 grandes grupos, conforme o instrumento utilizado, com subdivisão de 4 grupos para as soluções irrigadoras (n = 11). As substâncias químicas auxiliares foram inseridas no canal radicular com seringa descartável estéril e cânula de calibre 30 (Navi-Tip, Ultradent, South Jordan, UT, Estados Unidos).

- Grupo 1: 44 raízes foram preparadas com o instrumento Reciproc R25 acionado em movimento recíprocante por um motor elétrico Reciproc Silver usando os ajustes predefinidos pelo fabricante. O instrumento foi deslocado em direção apical em pequenos movimentos de bicada com amplitude de 3 mm até que houvesse resistência. A cada três movimentos de bicada, o instrumento era removido e limpo com gaze estéril. Este protocolo foi repetido até que o comprimento de trabalho fosse alcançado pelo instrumento R25. Para a irrigação do canal, utilizou-se 5 mL da solução irrigadora, durante todo o tratamento com o instrumento.

Para iniciar a instrumentação, irrigou-se o canal com 1 mL da solução, deixando o canal preenchido com a respectiva substância. Ao atingir o terço médio do canal, o conduto foi irrigado com 2 mL da solução. Continuou-se instrumentando o canal até o terço apical e irrigado com mais 2 mL da solução, em seguida aspirou-se com seringa (Ultradent Products, USA) e agulha Capillary Tips (Ultradent) acoplada. O objetivo dessa técnica foi padronizar a mesma quantidade da solução irrigadora, tanto para o instrumento recíprocante como para o instrumento rotatório. Os 44 dentes foram aleatoriamente subdivididos

em 4 grupos (n=11) de acordo a a substância auxiliar utilizada para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares:

Subgrupo 1: Instrumento Reciproc R25 + NaOCl 6%.

Subgrupo 2: Instrumento Reciproc R25 + Ca(ClO)₂ 6%.

Subgrupo 3: Instrumento Reciproc R25 + ESU 50%.

Subgrupo 4: Instrumento Reciproc R25 + Soro Fisiológico.

- Grupo 2: as demais 44 raízes foram preparadas com instrumentos ProTaper Next da seguinte forma: os canais radiculares foram instrumentados com os instrumentos X1 e X2 acionado em motor elétrico Reciproc Silver usando os ajustes para o instrumento rotatório X1 e X2, predefinidos pelo fabricante. Primeiramente foi utilizado o instrumento X1 em 2/3 do comprimento de trabalho. Confirmado o comprimento de trabalho, utilizou-se o instrumento X2 no comprimento de trabalho, em movimentos de bicada, pincelando o instrumento nas paredes do canal.

Por fim, em todos os grupos, utilizou-se 1 mL de EDTA 17% por 1 minuto (Iodontosul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) para a remoção de *smear layer* e 1 minuto de irrigação final com 1mL de soro fisiológico a fim de concluir o protocolo de tratamento.

4.4.6 Análise Microbiológica Final

Para a mensuração da eficácia dos protocolos de descontaminação, após os tratamentos específicos para cada grupo, foram realizados os mesmos procedimentos da análise microbiológica inicial, com algumas alterações: utilizou-se cone de papel absorvente estéril #25 (Tanari, Manacapuru, Amazonas, Brasil) (Figura 12.D)

introduzido no canal, este ainda preenchido com solução salina durante 30 segundos e levados para um microtubo contendo 1000 ml de solução salina estéril a 0,9% (Figura 12.E). A solução foi semeada em placas e feita a contagem de UFCs, de acordo com o protocolo inicial (Figura 12).

4.5 Análise Estatística

Para a análise das técnicas de instrumentação os números de UFCs foram transformados em \log^{10} . Para normalidade e homogeneidade de variâncias foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. A análise estatística utilizada para o teste piloto e para a análise dos diferentes protocolos de instrumentos foi teste Anova seguido pelo teste complementar de Tukey, para a comparação entre os grupos, com nível de significância de 5%. Para análise dos resultados utilizou-se o software Stat Plus Analyst Soft Inc. versão 6.0 (Vancouver, BC, Canada).

5. RESULTADOS

No estudo piloto, o $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 6% apresentou halo de inibição estatisticamente maior das demais soluções ($P < 0,05$), seguido do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 2,5% que foi semelhante estatisticamente ao NaOCl 6% ($P > 0,05$).

Tabela 1: Redução de *Enterococcus faecalis* pela técnica de disco difusão em ágar através do método do contato direto (n = 10).

Soluções Químicas Auxiliares	Halos de inibição (Média ± Desvio Padrão)	Teste estatístico de Tukey
Soro fisiológico	0,00 ± 0,00	D
ESU 10%	10,40 ± 1,16	C
ESU 30%	11,97 ± 0,48	C
ESU 50%	13,07 ± 0,65	C
NaOCl 6%	18,52 ± 1,37	B
$\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 2,5%	22,34 ± 4,96	B
$\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 6%	29,82 ± 8,23	A

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Os valores de P são significativos usando a análise de variância nas fileiras. Diferentes letras representam diferenças estatísticas significativas no procedimento post-hoc (teste de Tukey). ESU, Extrato de Semente de Uva; NaOCl, Hipoclorito de Sódio; $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, Hipoclorito de Cálcio.

Todas as concentrações de ESU resultaram nos menores halos de inibição dentre as substâncias ativas. Por fim o Soro Fisiológico, tido como grupo controle, apresentou resultado inferior e diferente dos demais grupos ($P < 0,05$). As concentrações de ESU 10%, 30% e 50% demonstraram efetividade antimicrobiana reduzida, comparada ao $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ e NaOCl , conforme descrito na Tabela 1.

Para o teste da análise de técnicas e substâncias utilizadas para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares, as médias e seus respectivos desvios-padrão dos níveis de redução microbiana entre os diferentes protocolos de tratamentos foram expressos em \log_{10} UFC/mL. Nenhum grupo foi capaz de promover uma completa descontaminação bacteriana nos canais radiculares. No entanto, todas as substâncias experimentais, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 6%, NaOCl 6% e ESU 50%, apresentaram semelhanças na capacidade de redução antimicrobiana quando comparados ao soro fisiológico, não apresentando diferença estatisticamente significantes entre si (Tabela 2).

Tabela 2: Avaliação da redução de *Enterococcus faecalis* através de técnicas e substâncias utilizadas para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares (n = 11).

Técnicas de Instrumentação / Substâncias	Antes da Instrumentação		Depois da Instrumentação		Teste estatístico de Tukey
	UFC Inicial (Média ± Desvio Padrão)	LOG Inicial (Média ± Desvio Padrão)	UFC Final (Média ± Desvio Padrão)	LOG Final (Média ± Desvio Padrão)	
<i>ProTaper X1 e X2</i>					
Soro Fisiológico	374424,27 ± 152986,27	5,82 ± 0,40	32606,06 ± 14414,36	4,48 ± 0,16	87,96% ± 9,34% B
ESU 50%	315636,45 ± 176327,16	5,64 ± 0,50	9115,15 ± 9921,88	3,50 ± 0,97	96,97% ± 2,51% A
NaOCl 6%	371757,36 ± 164392,86	5,73 ± 0,47	1090,91 ± 1770,67	1,88 ± 1,23	99,70% ± 0,49% A
Ca(ClO) ₂ 6%	410060,58 ± 99075,50	5,80 ± 0,33	6545,45 ± 7362,48	2,83 ± 1,49	98,02% ± 2,81% A
<i>Reciproc R25</i>					
Soro Fisiológico	370545,36 ± 148785,20	5,82 ± 0,40	35154,55 ± 14443,62	4,49 ± 2,62	89,23% ± 5,77% B
ESU 50%	380727,45 ± 139930,67	5,82 ± 0,40	11878,79 ± 7646,75	3,73 ± 0,70	96,72% ± 2,12% A
NaOCl 6%	400727,36 ± 166025,97	5,82 ± 0,40	2060,55 ± 2337,29	2,54 ± 1,25	99,56% ± 0,50% A
Ca(ClO) ₂ 6%	364363,64 ± 196807,57	5,64 ± 0,50	848,36 ± 1607,94	1,83 ± 1,16	99,65% ± 0,54% A

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Os valores de P são significativos usando a análise de variância nas fileiras. Diferentes letras representam diferenças estatísticas significativas no procedimento post-hoc (teste de Tukey). ESU, Extrato de Semente de Uva; NaOCl, Hipoclorito de Sódio; Ca(ClO)₂, Hipoclorito de Cálcio.

6. DISCUSSÃO

Na metodologia aplicada nesta pesquisa para o estudo piloto, se adotou a análise do tamanho das zonas de exibição, em ágar de difusão, do crescimento bacteriano como critério de registro. Esta metodologia foi aplicada no estudo de De Paula (2015), onde as substâncias de NaOCl 2,5% e 5% e Ca(ClO)₂ 0,5%, 1%, 2,5% e 5%, mantiveram-se em contato com *E. faecalis*, durante 15 seg, 30 seg, 1 min, 5 min e 10 min. Os halos de inibição foram mensurados e quantificados, no qual Ca(ClO)₂ 5% apresentou mais eficiência, e Ca(ClO)₂ 5% e NaOCl 5% não apresentaram diferenças estatísticas. Esses resultados estão de acordo com os resultados desta pesquisa, onde Ca(ClO)₂ 6% apresentou maiores halos de inibição e Ca(ClO)₂ 2,5% e teve atividade antimicrobiana comparada ao NaOCl 6%, sem diferença estatística significativa.

No estudo de Siqueira *et al.* (2000), os efeitos inibidores de NaOCl 1%, 2,5% e 5,25% sobre *E. faecalis* também foram avaliados por meio do teste de difusão em ágar. A mesma suspensão bacteriana utilizada para contaminar os canais radiculares foi utilizada para semear a superfície de placas de ágar *Mitis sulfivarius*. Os discos de papel com 6 mm de diâmetro embebido com as soluções de teste foram colocados sobre a superfície de agar. As placas foram incubadas aerobicamente a 37 ° C durante 2 dias e os diâmetros das zonas de inibição bacteriana

foram medidos e registrados para cada solução testada. As três concentrações de NaOCl mostraram grandes zonas de inibição contra *E. faecalis* no teste de difusão em ágar. Neste estudo, as concentrações de GSE foram as que menos promoveram zonas de inibição, demonstrando atividade antimicrobiana reduzida quando comparada ao NaOCl e $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, apesar de estar em concentrações mais elevadas.

GSE é uma solução até então pouco estudada para o uso em Endodontia e por isso necessita de estudos adicionais para comprovar a sua efetividade, já que não existe um consenso da concentração adequada para a solução. Também apresenta componentes na sua composição totalmente diferentes. NaOCl e $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ tem em sua composição cloro livre (DORNELLES-MORGENTAL *et al.*, 2011), e a eficácia desse componente pode ser afetado por vários fatores, entre eles quanto mais ácida e maior concentração da solução, maior o seu efeito antimicrobiano (CAMPS *et al.*, 2009; DORNELLES-MORGENTAL *et al.*, 2011). Dessa maneira podemos sugerir que concentrações mais altas de GSE apresentem maior efetividade antibacteriana, promovida pelas proantoacínidinas (WU, 2009), aproveitando que a solução apresenta baixa citotoxicidade (HAN *et al.*, 2003).

Para o teste da análise de técnicas e substâncias químicas auxiliares utilizadas para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares, a avaliação da morfologia dental foi um fator relevante inicial. No presente estudo foram utilizados dentes naturais para simular a presença de bactérias e a ação químico-mecânica no tratamento endodôntico, ao contrário de alguns estudos que utilizaram canais simulados ou canais de dentes bovinos (RETAMOZO *et al.*, 2010; MACHADO *et al.*, 2012). No entanto, a simulação da instrumentação

nos canais simulados nem sempre representa a ação dos instrumentos nos canais radiculares de dentes naturais, pois devemos levar em consideração a posição anatômica do elemento dental na arcada dentária do paciente e outros fatores inerentes ao organismo do mesmo. Por outro lado, desde que as condições sejam as mesmas para ambos os instrumentos e soluções químicas auxiliares, o trabalho realizado pelo mesmo operador e a anatomia original de um dente natural, a técnica se torna válida para estudo (YOO; CHO, 2012).

Levando isso em consideração, foram selecionadas raízes radiculares méso-vestibulares de primeiro molares inferiores naturais, como no estudo de Arias *et al.* (2014), Capar *et al.* (2014) e Elnaghy e Elsaka (2014), por serem considerados os dentes com maior frequência de tratamento endodôntico, conforme descreve Silveira *et al.* (2015) e por apresentar grande variação morfológica dental interna, como istmos, reentrâncias, ramificações (VERTUCCI, 1987; TEIXEIRA *et al.*, 2003; SERT e BAYIRLI, 2004; MATTUELLA *et al.*, 2005; CHIVATXARANUKUL *et al.*, 2008; BRUM, 2013), sendo propício para a presença e proliferação de bactérias resistentes, como o *E. faecalis*, que é capaz de resistir em ambientes com ausência de oxigênio (PECULIENTE *et al.*, 2000; PINHEIRO *et al.*, 2003; RÔÇAS *et al.*, 2004; SEDGLEY *et al.*, 2005).

As amostras das raízes foram padronizadas de maneira a ter praticamente o mesmo comprimento, evitando raízes com curvaturas acentuadas e preferindo ápices com diâmetro anatômico semelhante, de acordo com a maioria dos estudos citados e conforme o método Schneider (1971), método também utilizado no estudo de Paqué *et al.* (2011), Machado *et al.* (2012), Capar *et al.* (2014), Elnaghy e Elsaka

(2014), Li *et al.* (2015) e Koçak *et al.* (2015). Os espécimes foram padronizados em 15 mm acima do ápice radicular para que todos obtivessem o mesmo comprimento de trabalho, assim como realizado no estudo de Berber *et al.* (2006), Machado *et al.* (2013) e Souza *et al.* (2016). Alguns estudos mostram diferença no comprimento de padronização, como 12 mm (MACHADO *et al.*, 2013), 13 mm (SIQUEIRA *et al.*, 2013), 16 mm (MACHADO *et al.*, 2012), 19 mm (YOO e CHO, 2012; GAGLIARDI *et al.*, 2015).

Para padronizar o diâmetro inicial do ápice radicular e criar espaço para contaminação adicional dos canais, todas as raízes selecionadas apresentavam um diâmetro anatômico compatível com uma lima tipo K-file #10 e foram instrumentados com lima tipo K-file #10 e #15 (MACHADO *et al.*, 2013; CAPAR *et al.*, 2014; ELNAGHY e ELSAKA, 2014; KOÇAK *et al.*, 2015). Alguns estudos utilizam instrumentação inicial somente com lima manual #10 (ARIAS *et al.*, 2014; GAGLIARDI *et al.*, 2015), assim como outros estudos utilizam limas de diâmetro maior para obter espaço adequado, conforme cada metodologia aplicada para descontaminação bacteriana (SIQUEIRA *et al.*, 2000; BERBER *et al.*, 2006). No presente estudo, o objetivo de um instrumento #15 foi para facilitar a instrumentação dos instrumentos rotatórios ProTaper Next X1 e X2 e recíprocante Reciproc R25.

Optou-se por não utilizar preparo cervical com Brocas Gattes Gliden e/ou Brocas Largo, como utilizados em vários estudos (PAQUÉ *et al.*, 2011; DE-ALMEIDA *et al.*, 2014; GAGLIARDI *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2016), pois o sistema Reciproc R25 é indicado como instrumento único, e o instrumento ProTaper também não necessita obrigatoriamente de preparo inicial. Os espécimes, depois de

padronizados o comprimento de trabalho e o diâmetro apical, tiveram os ápices selados com Resina Composta e a parte externa das raízes seladas com cianoacrilato, assim como no estudo de Siqueira *et al.* (2000), Alves *et al.* (2012), Siqueira *et al.* (2013), De-Almeida *et al.* (2014) e D'Aviz (2015), evitando o extravasamento e mantendo as colônias bacterianas no conduto radicular e demais ramificações.

Utilizou-se *E. faecalis* pela grande relevância clínica, sendo utilizado na maioria dos estudos por desempenhar um papel importante na etiologia de lesões perirradiculares (EVANS *et al.*, 2002; MCHUGH *et al.*, 2004; STUART *et al.*, 2006; BRUM, 2013) e por ser um micro-organismo altamente resistente ao preparo químico-mecânico (SIQUEIRA *et al.*, 1999). A utilização de um modelo de biofilme de uma única espécie poderia influenciar os resultados, pois sabemos que existem inúmeras espécies bacterianas (KAKEHASHI *et al.*, 1965; MILLER, 1980; BAUMGHARTER e FALKLER, 1991; SUNDQVIST *et al.*, 1998; GOMES *et al.*, 2004; VIANNA, 2006) presentes nas doenças periapicais primárias, secundárias e em dentes retratados endodonticamente. Mesmo sabendo da resistência do *E. faecalis* a vários fatores e por ser uma bactéria padrão utilizada em pesquisas na área da Endodontia, a presença de um biofilme polimicrobiano levaria o estudo o mais próximo possível da situação *in vivo*, visto que as soluções químicas auxiliares podem ter efeito máximo em algum tipo de microbiota endodôntica ou apresentar pouca eficácia para outras espécies.

A cepa ou estirpe bacteriana do *E. faecalis* utilizada foi a ATCC 19433, obtida do laboratório de Microbiologia da Faculdade de Farmácia, na Universidade de Passo Fundo foi a mesma utilizada nos

estudos de De-Almeida *et al.* (2014), Cecchin *et al.* (2015), D'Aviz (2015). Outros estudos utilizaram estirpe de bactérias diferentes, como a 29212 (BEBER *et al.*, 2006; SIQUEIRA *et al.*, 2000; ALVES *et al.*, 2012; MACHADO *et al.*, 2013; SIQUEIRA *et al.*, 2013; DUMANI *et al.*, 2016; SEDIGH-SHAMS *et al.*, 2016), estirpe 4082 (RETAMOZO *et al.*, 2010), estirpe 21224 (CHAITANYA *et al.*, 2016) ou VP3-181 (WANG *et al.*, 2012). A diferença de estirpes pode causar resultados diferentes, pois não é a mesma bactéria e sim grupos de descendentes que compartilham semelhanças morfológicas ou fisiológicas, podendo ou não apresentar resistências diferentes as substâncias químicas auxiliares. Cepa bacteriana se refere a bactérias criadas em laboratório com a finalidade de estudos.

Utilizou-se como padrão de referência de suspensão bacteriana a Escala de turbidez Mc Farland, para determinar uma quantidade aproximada de bactérias por mililitro. A escala varia de 0,5 a 10. O tubo de ensaio foi comparado visualmente contendo a cepa bacteriana com o caldo de BHI até ser semelhante ao tubo de Ensaio 1 da escala, como no estudo de Ferrer-Luque *et al.* (2014), Alguns estudos utilizaram escalas diferentes, como escala 0,5 (FROUGH-REYHANI *et al.*, 2016); 2 (BERBER *et al.*, 2006), escala 4 (MACHADO *et al.*, 2016). Pelo fato do conduto radicular ser um espaço relativamente pequeno, obteve-se pela escala 1 que corresponde a 3×10^8 UFC/ml, suficiente para formar colônias bacterianas.

O método de crescimento bacteriano utilizado já foi relatado em outros estudos de atividade antimicrobiana. Apesar de esse estudo ter seguido o protocolo de contaminação e descontaminação do De-Almeida *et al.* (2014), onde o mesmo utilizou 30 dias de contaminação, o tempo

de contaminação da bactéria *E. faecalis* foi de 21 dias, pois acredita-se que é tempo suficiente para formar UFCs de forma estruturada (BEBER *et al.*, 2006; MACHADO *et al.*, 2013; DUMANI *et al.*, 2016; SEDIGH-SHAMS *et al.*, 2016), visto que alguns estudos mostram a formação de UFCs em 24 horas (SIQUEIRA *et al.*, 2000; ARIAS-MOLIZ *et al.*, 2010). Acredita-se que quanto mais tempo de incubação bacteriana nos canais radiculares teremos um biofilme mais condensado, porém não há um tempo específico, pois o tempo relatado na literatura varia de 7 dias (AYDIN *et al.*, 2007), 15 dias (SOUZA *et al.*, 2016), até 30 dias (ALVES *et al.*, 2012; SIQUEIRA *et al.*, 2013; DE-ALMEIDA *et al.*, 2014; GHINZELLI *et al.*, 2014; CECCHN *et al.*, 2015; D'Aviz 2015). A reposição desse meio de cultura foi realizada a cada 48 horas (2 dias) para que a Bactéria se infiltrasse bem nas paredes do canal radicular, assim como no estudo de Beber *et al.* (2006) e Machado *et al.* (2013). Outros estudos restabelecem o meio de cultura a cada semana (ALVES *et al.*, 2012).

A coleta inicial e final para avaliar a quantidade de UFCs foi realizada com cones de papel estéril com o diâmetro inicial e final, em concordância com vários autores (SIQUEIRA *et al.*, 2000; BERBER *et al.*, 2006;; MACHADO *et al.*, 2013; SIQUEIRA *et al.*, 2013; DE-ALMEIDA *et al.*, 2014; D'AVIZ *et al.*, 2015), no entanto o uso de papel apresenta a desvantagem de somente verificar a redução bacteriana na luz do canal. Uma análise de microscopia eletrônica de varredura completaria a avaliação da redução nos túbulos dentinários e demais reentrâncias.

Assim como no estudo de Berber *et al.* (2006); Alves *et al.* (2012); De-Almeida *et al.* (2014); D'Aviz *et al.* (2015) e Chaitanya *et al.*

(2016) a contagem de UFCs foi representada por Log para facilitar a quantificação bacteriana do espaço do canal radicular, estimando-se o número de micro-organismos em determinada população bacteriana. Entretanto, essa avaliação não abrange os túbulos dentinários nem compreende a viabilidade dessas bactérias, pois o contato do cone de papel, descrito anteriormente, é somente nas paredes dentinárias.

A desinfecção de canais radiculares é uma ação conjunta das substâncias químicas auxiliares e da instrumentação, visando à limpeza e desinfecção dos canais radiculares, pois o uso de somente um item não é capaz de proporcionar uma antissepsia satisfatória (BYSTRÖM e SUNDQVIST, 1981; PETERS *et al.*, 2002). Neste estudo utilizaram-se duas técnicas de instrumentação, uma rotatória e outra recíproca. ProTaper Next é um instrumento otimizado do ProTaper Universal, reduzido na quantidade de instrumentos, apresentando movimentos de rotação simétrica, com duas arestas que giram livremente e duas arestas que cortam (JOHNSON *et al.*, 2008; PEREIRA *et al.*, 2013; PROTAPER NEXT ROTARY FILES). O Sistema Reciproc foi desenvolvido para ser um instrumento de uso único, com duas lâminas ativas, onde o ângulo maior determina o avanço do instrumento no interior do canal, cortando dentina, ao passo que o ângulo menor libera o instrumento (PLOTINO *et al.*, 2012). Independente da cinemática do instrumento, mesmo que a habilidade de corte difere, o principal objetivo do tratamento endodôntico é a desinfecção dos sistemas de canais (BYSTRÖM e SUNDQVIST, 1983; PETERS *et al.*, 2002).

Neste estudo, nenhum grupo foi capaz de promover uma completa descontaminação bacteriana nos canais radiculares. A instrumentação empregando um único instrumento (Reciproc 25) atingiu

uma redução bacteriana sem diferenças estatísticas em relação à técnica rotatória com dois instrumentos (ProTaper Next X1 e X2). Tais informações aprovam a hipótese inicial. No entanto, o uso repetitivo dos instrumentos no preparo mecânico reduz a capacidade de descontaminação. Os resultados poderiam ter sido diferentes caso os instrumentos fossem utilizados no máximo em até 5 preparos radiculares.

Relativamente, a quantidade de uso do instrumento interfere na capacidade antimicrobiana do mesmo. Neste estudo o instrumento foi utilizado para cada grupo, ou seja, o instrumento foi utilizado em 11 canais radiculares e depois descartado. Alguns estudos utilizam o instrumento a cada 5 canais radiculares (GRECCA, 2003), ou 1 conjunto de instrumento a cada preparação de canal (ARIAS *et al.*, 2014).

Inúmeros estudos avaliaram a capacidade antimicrobiana desses instrumentos, por meio de cultura bacteriana (SIQUEIRA *et al.*, 2000; BEBER *et al.*, 2006; ARIAS-MOLIZ *et al.*, 2010; ALVES *et al.*, 2012; DU MACHADO *et al.*, 2013; SIQUEIRA *et al.*, 2013; CECCHN *et al.*, 2015; D'Aviz 2015; DUMANI *et al.*, 2016; SEDIGH-SHAMS *et al.*, 2016), MEV (BAUMGARTHER e CUENIN, 1992), tomografia computadorizada (CAPAR *et al.*, 2014), além de avaliar a quantidade de desgaste da dentina nas paredes dos canais radiculares (SINGLA *et al.*, 2010; PAQUÉ *et al.*, 2011; ELNAGHY e ELSAKA, 2014), tempo de instrumentação (MACHADO *et al.*, 2012), capacidade de manter a anatomia original (BERUTTI *et al.*, 2012), capacidade de centralização (CAPAR *et al.*, 2014, GAGLIARDI *et al.*, 2015), material extruído apicalmente (KOÇAK *et al.*, 2015), eficiência de limpeza (BURKLEIN e SCHAFER, 2012; PLOTINO *et al.*, 2014; ALATTAR *et al.*, 2015),

entre outros. As várias técnicas de análises podem gerar dados diferentes, porém acredita-se que todas as técnicas, de alguma maneira, avaliam a efetividade antimicrobiana.

Os resultados descobertos neste estudo divergem do trabalho de Capar *et al.* (2014), que avaliou os efeitos de 6 instrumentos endodônticos, sobre transporte apical, relação de centralização, área de superfície tocada e mudanças volumétricas dos canais de molares inferiores, entre eles ProTaper Next e Reciproc. Os autores concluíram que as alterações volumétricas foram estatisticamente significativas, enquanto que as alterações na área de superfície não foram. O instrumento Reciproc apresentou desempenho maior comparado com o instrumento ProTaper. Yoo e Cho (2012) também avaliaram a capacidade de modelagem dos instrumentos Recipro e ProTaper e concluíram que os instrumentos reciprocantes mantiveram a curvatura melhor que os instrumentos rotatórios.

Machado *et al.* (2013), avaliaram a redução bacteriana promovida por esses instrumentos e notaram uma redução semelhante para ambas as técnicas. Essas pesquisas estão de acordo com este estudo, embora poucas pesquisas foram feitas até o momento avaliando entre os instrumentos propriamente utilizados neste estudo.

Acredita-se que a capacidade de remoção de micro-organismos é similar ao tempo de contato do instrumento nas paredes dos canais (MACHADO *et al.*, 2012), e ao torque utilizado no instrumento (GRECCA, 2003; ARIAS *et al.*, 2014). Os fabricantes aconselham a aplicação da velocidade entre 150 e 350 rpm para os instrumentos ProTaper, já o sistema reciprocante contém um motor exclusivo da VDW SILVER, onde os instrumentos são manuseados a uma velocidade

de 10 ciclos de uma velocidade de 10 ciclos de “vai e vem”, correspondente a 300 rpm. O motor é acessível também para programa rotatório, pois apresenta programações particulares para cada instrumento, com velocidade e ângulos de movimentos modificados. Neste estudo se utilizou o mesmo motor endodôntico para ambas os sistemas de instrumentação, assim como nos estudos de Yoo e Cho *et al.* (2012), Siqueira *et al.* (2013), Gagliardi *et al.* (2015), Alattar *et al.* (2015), alternando o programa entre Reciproc e ProTaper. Portanto o torque e a velocidade foram o imposto pelo fabricante. Presume-se que um instrumento utilizado em elevado torque seja mais ágil/ativo, agregando força a capacidade de corte do instrumento, entretanto pode ocasionar alteração na estrutura do instrumento, como fadiga e fratura (GRECCA, 2003). Alguns estudos descrevem o torque e rotação utilizados, sendo 300 rpm, torque 2,0 (CAPAR *et al.*, (2014) e 300 rpm e torque 2,5 Ncm (GAGLIARDI *et al.*, 2015).

Nos grupos instrumentado com o instrumento rotatório ProTaper, o instrumento X1 e X2 foram utilizados no sentido coroa ápice, ambos em movimentos na direção apical. Com o instrumento recíprocante Reciproc R25, foram feitos movimentos de bicada em direção apical em pequenos movimentos com amplitude de 3 mm até que houvesse resistência. Este protocolo foi repetido até que o comprimento de trabalho fosse alcançado pelo instrumento R25, o mesmo utilizado no estudo de Alves *et al.* (2012), Capar *et al.* (2014) e D’Aviz *et al.* (2015).

A eficácia antimicrobiana do NaOCl já foi abundantemente argumentada na literatura (BAUMGARTHER e CUENIN, 1992; SIQUEIRA *et al.*, 2000; GOMES *et al.*, 2001; NAENNI *et al.*, 2004; VIANNA *et al.*, 2004; BERBER *et al.*, 2006; VIANNA *et al.*, 2006;

RETAMOZZO *et al.*, 2010; CHAUDHRY *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2012; NAKAMURA *et al.*, 2013; CHAITANYA *et al.*, 2016; FROUGH-REYHANI *et al.*, 2016). Contudo alguns autores relatam a toxicidade do NaOCl quando em contato com tecidos periapicais (SPANGBERG *et al.*, 1973; PASHLEY *et al.*, 1985; BECKING, 1991; HÜLSMANN e HAHN, 2000; GURSOY *et al.*, 2006; KLEIER *et al.*, 2008; DE SERMENÕ *et al.*, 2009; MOTTA *et al.*, 2009) e sua possibilidade de interferir na adesão de materiais restauradores à dentina (SANTOS *et al.*, 2006; FARINA *et al.*, 2011). No entanto, concentrações baixas de NaOCl também são capazes de eliminar microorganismos (BYSTRÖM e SUNDQVIST, 1983). Em virtude desses argumentos, novas substâncias precisam ser introduzidas como alternativa no tratamento endodôntico. Pesquisas já revelam capacidade antimicrobiana de outras substâncias, como o $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ (DUTTA e SAUNDERS, 2012; DE-ALMEIDA *et al.*, 2014; SEDIGH-SHAMS *et al.*, 2016; DUMANI *et al.*, 2016; LEONARDO *et al.*, 2016; BLATTES *et al.*, 2017) e ESU (AL-AMMAR *et al.*, 2009; SHRESTHA *et al.*, 2012; GHONMODE *et al.*, 2013; CECCHIN *et al.*, 2015).

A porcentagem de concentrações das soluções varia nas pesquisas. Boa parte das pesquisas feitas com NaOCl utiliza como concentração maior 5,25% (BAUMGARTHER e CUENIN, 1992; SIQUEIRA *et al.*, 2000; BERBER *et al.*, 2006; RETAMOZZO *et al.*, 2010; CHAUDHRY *et al.*, 2011; NAKAMURA *et al.*, 2013). Neste estudo utilizou-se uma concentração mais alta, de 6%, estando de acordo com o estudo realizado por Wang *et al.* (2012), onde testaram NaOCl 2% e 6% e outras substâncias, sendo a concentração mais alta de NaOCl mais eficaz para a microbiota de *E. faecalis*. Os estudos citados a cima

mostram que concentrações mais altas de NaOCl são mais efetivas contra meios de cultura que concentrações inferiores. Para as demais soluções químicas auxiliares aplicadas neste estudo, o ESU e $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ são substâncias químicas auxiliares introduzidas recentemente, portanto a concentração ainda está em discussão, não tendo sido encontrada pesquisas para comparar com as concentrações utilizadas.

O $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ é uma substância nova e com poucos estudos na área da Endodontia, mas foi introduzida por favorecer a degradação de matéria orgânica na mesma proporção do NaOCl, conforme descreve Dutta e Saunders (2012). De-Almeida *et al.* (2014) e Dumani *et al.* (2016) avaliaram a capacidade antimicrobiana do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, e compravam sua efetividade, pois a solução foi capaz de reduzir as UFCs, sem diferenças estatísticas com o grupo em que se utilizou NaOCl. Assim, está de acordo com este estudo, em que não houve diferenças estatísticas entre as substâncias testadas, embora esta substância tenha apresentado maior redução de UFCs. Sedigh-Shams *et al.* (2016) e Blattes *et al.* (2017) concluíram que $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ é menos tóxico e mais eficaz na eliminação de *E. faecalis* quando comparado as soluções de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 1%, $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 2,5%, NaOCl 1%, NaOCl 2,5%, e solução salina 0,9%, apresentando biocompatibilidade com os tecidos periapicais. Leonardo *et al.* (2016) avaliaram o pH, o teor de cloro disponível e a tensão superficial do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ e NaOCl e concluíram que $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ é uma solução alcalina com maior teor de cloro disponível por se transformar em ácido hipocloroso quando diluído em solução aquosa (SU *et al.*, 2009).

O ESU apresenta em sua estrutura Proantocinidinas (Wu, 2009) benéfica a estrutura dentinária, a remineralização dental, e por favorecer

a união aos materiais restaurados, (BAGCHI *et al.*, 2000; XIE *et al.*, 2008; AL-AMMAR *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2016) e apresentar atividade antimicrobiana comprovada (AL-HABIB *et al.*, 2010; SHRESTHA *et al.*, 2012; GHONMODE *et al.*, 2013 e CECCHIN *et al.*, 2015). Baydar *et al.* (2006) testaram ESU em concentrações de 1%, 2,5%, 5% e 10%, para várias bactérias, entre elas *E. faecalis*, pelo método de difusão de ágar, analisando os halos de inibição. Os autores concluíram que todas as concentrações foram eficazes para as bactérias testadas. Resultados esses diferentes desta pesquisa, em que o ESU foi o que apresentou redução bacteriana menor das demais soluções, mesmo em concentração mais elevada, de 50%.

Cecchin *et al.* (2015) também avaliaram ESU 6,5% e concluíram que nessa concentração o ESU foi mais eficaz que o NaOCl 2,5% na redução do número de *E. faecalis*, bem como não promoveu efeitos adversos nas propriedades mecânicas da dentina. Por outro lado, D'Aviz (2015) testou a substância na concentração de 6,5%, comparando com o uso de NaOCl 5,25% e CHX 2%, tanto na forma líquida como na forma em gel, e os resultados demonstraram que o ESU resultou em baixa atividade antimicrobiana. Cecchin *et al.*, 2015 utilizou canais retos e instrumentos manuais; por outro lado, D'Aviz utilizou canais curvos e instrumentos reciprocantes. No presente estudo, a concentração do ESU foi de 50%, considerada uma concentração alta, aumentando assim o seu potencial de atividade antimicrobiana quando comparada a concentrações baixas como 6,5% dos estudos mencionados acima.

Um fator que pode provocar alterações na qualidade de remoção de micro-organismo é o volume da solução química auxiliar usada para a irrigação dos canais radiculares (SIQUEIRA *et al.*, 2000; BERBER *et*

al., 2006). Na prática clínica a quantidade de solução varia entre um caso e outro. Neste estudo a quantidade foi padronizada para que todos os grupos tivessem a mesma dose de irrigação, sendo 5 mL , seguido de 1 mL de EDTA 17% durante 1 minutoe logo após, 1 mL de soro fisiológico para inativação do EDTA, estando de acordo com o estudo de D'Aviz (2015). O protocolo de utilização de EDTA também foi utilizado por Machado *et al.* (2013) e Cecchin *et al.* (2015), porém utilizaram durante 3 minutos. A combinação de solução química auxiliar e EDTA 17 % apresenta efeito positivo, uma vez que algumas soluções não são eficientes na deposição de matéria inorgânica, oficio este atribuído ao EDTA.

Para as soluções de $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ e ESU se observou formação de precipitado, onde a parte sólida se depositou no fundo do frasco da solução. Para que a solução não perdesse sua concentração a cada irrigação nos canais radiculares, o frasco foi agitado para ocorrer uma melhor diluição da parte sólida com a líquida. No trabalho de Leonardo *et al.* (2016), as soluções de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 2,5% e 5,25% também permitiram a formação de precipitado. Os autores sugerem estudos adicionais para verificar a influência deste fator sobre as propriedades das soluções, pois a solução é oferecida em forma de pó de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 65% de pureza.

Dessa maneira, se reconhece que não há uma prática clínica padrão utilizando instrumentos e soluções químicas auxiliares ideais para a erradicação de micro-organismos no o tratamento endodôntico. Mais pesquisas devem ser efetuadas para mensurar a eficiência desses instrumentos e soluções em regiões de difícil acesso, como istmos e reentrâncias, e talvez em meios de culturas polimorfológicos, comparando o mais próximo possível com a realidade clínica.

7. CONCLUSÕES

Fundamentado os resultados obtidos e nas circunstâncias experimentais desse estudo, pode-se concluir que:

- a) No teste de difusão em ágar contra o *E. faecalis*, as diferentes concentrações de ESU não apresentaram diferenças estatísticas.. A melhor atividade antimicrobiana foi apresentada pelo $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 6%, seguido do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 2,5% que foi semelhante ao NaOCl 6%.
- b) ESU 50% e $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ apresentaram a mesma capacidade em eliminar *E. faecalis* que o NaOCl 6%.
- c) As técnicas de instrumentação testadas, utilizando diferentes instrumentos com cinemática diferente apresentaram a mesma eficácia na redução de *E. faecalis*.

REFERÊNCIAS

AAS, J.A.; PASTER, B.J.; STOKES, L.N.; OLSEN, I.; DEWHIRST, F.E. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol*, v. 43, n. 11, p. 5721-5732, 2005.

AGUIAR, T.R.; VIDAL, C.M.; PHANSALKAR, R.S.; TODOROVA, I.; NAPOLITANO, J.G.; MCALPINE, J.B.; CHEN, S.N.; PAULI, G.F.; BEDRAN-RUSSO, A.K. Dentin biomodification potential depends on polyphenol source. *J Dent Res*, v. 93, n. 4, p. 417-422, 2014.

AL-AMMAR, A.; DRUMMOND, J.L.; BEDRAN-RUSSO, A.K. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, v. 91, n. 1, p. 419-424, 2009.

ALATTAR, S.; NEHME, W.; DIEMER, F.; NAAMAN, A. The influence of brushing motion on the cutting behavior of 3 reciprocating files in oval-shaped canals. *J Endod*, v. 41, n. 5, p. 703-709, 2015.

AL-HABIB, A.; AL-SALEH, E.; SAFER, A-M.; MOHAMMAD, A. Bactericidal effect of grape seed extract on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Toxicol Sci*, v. 35, n. 3, p. 357-364, 2010.

ALVES, F.R.F; RÔÇAS, I.N.; ALMEIDA, B.M.; NEVES, M.A.S.; ZOFFOLI, J.; SIQUEIRA JR, J.F. Quantitative molecular and culture analyses of bacterial elimination in oval-shaped root canals by a single-file instrumentation technique. *Int Endod J*, v. 45, n. 9, p. 871-817, 2012.

ARIAS, A.; SINGH, R.; PETERS, O.A. Torque and Force Induced by ProTaper Universal and ProTaper Next during Shaping of Large and

Small Root Canals in Extracted Teeth. *J Endod*, v. 40, n. 7, p. 973–976, 2014.

ARIAS-MOLIZ, M.T.; FERRER-LUQUE, C.M.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M.P.; VALDERRAMA, M.J.; BACA, P. Eradication of *Enterococcus faecalis* biofilms by cetrimide and chlorhexidine. *J Endod*, v. 36, n. 1, p. 87-90, 2010.

AYDIN, C.; TUNCA, Y.M.; SENSES, Z.; BAYSALLAR, M.; KAYAOGLU, G.; ÖRSTAVIK, D. Bacterial reduction by extensive versus conservative root canal instrumentation *in vitro*. *Acta Odontol Scand*, v. 65, n. 3, p. 167-170, 2007.

BAGCHI, D.; BAGCHI, M.; STOHS, S.J.; DAS, D.K.; RAY, S.D.; KUSZYNSKI, C.A.; JOSHI, S.S.; PRUESS, H.G. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, v. 148, n. 2-3, p. 187–197, 2000.

BALBINOTT, M.M. *Resistência à união entre resina e dentina desproteínizada com substâncias oxidantes*. 2009. [s.n]. 30 f. Monografia (Especialização em Dentística) – Universidade de Passo Fundo, Faculdade de Odontologia, Passo Fundo, 2009.

BAUGH, D.; WALLACE, J. The role of apical instrumentation in root canal treatment: a review of the literature. *J Endod*, v. 31, n. 5, p. 333-340, 2005.

BAUMGARTNER, J.C.; CUENIN, P.R. Efficacy of Several Concentrations of Sodium Hypochlorite for Root Canal Irrigation. *J Endod*, v. 18, n. 12, p. 605-612, 1992.

BAUMGARTNER, J.C.; FALKLER, W.A. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *J Endod*, v. 17, n. 8, p. 380-383, 1991.

BAYDAR, N.G.; SAGDIC, O.; OZKAN, G.; CETIN, S. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extracts. *Int J Food SCI Tech*, v. 41, [s.n], p. 799–804, 2006.

BECKING, A.G. Complications in the use of sodium hypochlorite during endodontic treatment: Report of three cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 71, n. 3, p. 346-348, 1991.

BERBER, V.B.; GOMES, B.P.F.A.; SENA, N.T.; VIANNA, M.E.; FERRAZ, C.C.R.; ZAIA, A.A.; SOUZA-FILHO, F.J. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *Int Endod J*, v. 39, n. 1, p. 10-17, 2006.

BERGMANS, L.; CLEYNENBREUGEL, J.V.; WEVERS, M.; LAMBRECHTS, P. Mechanical root canal preparation with NiTi rotary instruments: Rationale performance and safety. *Am J Dent*, v. 14, n. 5, p. 324-333, 2001.

BERUTTI, E.; CHIANDUSSI, G.; PAOLINO, D.S.; SCOTTI, N.; CANTATORE, G.; CASTELLUCCI, A.; PASQUALINI, D. Canal shaping with WaveOne Primary reciprocating files and ProTaper system: a comparative study. *J Endod*, v. 38, n. 4, p. 505-509, 2012.

BLATTES, G.B.; MESTIERI, L.B.; BÖTTCHER, D.E.; FOSSATI, A.C.; MONTAGNER, F.; GRECC, F.S. Cell migration, viability and tissue reaction of calcium hypochlorite based-solutions irrigants: An in vitro and in vivo study. *Arch Oral Biol*, v. 73, [s.n], p. 34-39, 2017.

BROWN, J.C.; HUANG, G.; HALEY-ZITLIN, V.; JIANG, X. Antibacterial Effects of Grape Extracts on *Helicobacter pylori*. *Appl Environ Microbiol*, v. 75, n. 3, p. 848-852, 2009.

BROWN, L.R.; RUDOLPH, C.E. Isolation and identification of microorganisms from unexposed canals of pulp involved teeth. *Oral Surg*, v. 10, n. 10, p. 1094-1099, 1957.

BRUM, C.B.B. *Comparação entre Técnicas de Instrumentação e Protocolos de Irrigação na Redução de E. faecalis no Canal Radicular: Estudo Ex Vivo*. 2013. [s.n]. 127 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica – Área de Endodontia) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, São Paulo, 2013.

BÜRKLEIN, S.; BENTEN, S.; SCHAFER, E. Shaping ability of different single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J*, v. 46, n. 6, p. 590-597, 2013.

BÜRKLEIN, S.; HINSCHITZA, K.; DAMMASCHKE, T.; SCHÄFER, E. Shaping ability and cleaning effectiveness of two single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth: Reciproc and WaveOne versus Mtwo and ProTaper. *Int Endod J*, v. 45, n. 5, p. 449-461, 2012.

BÜRKLEIN, S.; SCHAFER, E. Apically extruded debris with reciprocating single-file and full-sequence rotary instrumentation systems. *J Endod*, v. 38, n. 6, p. 850-852, 2012.

BÜRKLEIN, S.; TSOTSIS, P.; SCHAFER, E. Incidence of dentinal defects after root canal preparation: reciprocating versus rotary instrumentation. *J Endod*, v. 39, n. 4, p. 501-504, 2013

BYSTRÖM, A.; CLAEISSON, R.; SUNDQVIST, G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol*, v. 1, n. 5, p. 170-175, 1985.

BYSTRÖN, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*, v. 89, n. 4, p. 321-328, 1981.

BYSTRÖM, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 55, n. 3, p. 307-312, 1983.

CAMPS, J.; POMMEL, L.; AUBUT, V.; VERHILLE, B.; SATOSHI, F.; LASCOLA, B.; ABOUT, I. Shelf life, dissolving action, and antibacterial activity of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite solution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 108, n. 2, p. e66-73, 2009.

CAPAR, I.D.; ERTAS, H.; OK, E.; ARSLAN, H.; ERTAS, E.T. Comparative study of diferente novel nickel-titanium rotary systems for root canal preparation in severely curved root canals. *J Endod*, v. 40, n. 6, p. 852-856, 2014.

CASTELLAN, C. S.; PEREIRA, P.N.; GRANDEA, R.H.M.; BEDRAN-RUSSO, A.K. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. *Dent Mater*, v. 26, n. 10, p. 968-973, 2010.

CECCHIN, D.; FARINA, A.P.; SOUZA, M.A.; ALBARELLO, L.L.; SCHEINER, A.P.; VIDAL, C.M.P.; BEDRAN-RUSSO, A.K. Evaluation of antimicrobial effectiveness and dentine mechanical properties after use of chemical and natural auxiliary irrigants. *J Dent*, v. 43, n. 6, p. 695-702, 2015.

CECCHIN, D.; SOUSA-NETO, M.D.; PÉCORI, J.D.; SILVA, R.G. Influence of cervical preflaring on determination of apical file size in the palatal roots of maxillary molars. *Rev Odonto Cienc*, v. 27, n. 2, p. 137-142, 2012.

CHAITANYA, B.V.; SOMISETTY, K.V.; DIWAN, A.; PASHA, S.; SHETTY, N.; REDDY, Y.; NADIGAR, S. Comparison of Antibacterial Efficacy of Turmeric Extract, Morinda Citrifolia and 3% Sodium Hypochlorite on *Enterococcus faecalis*: An In-vitro Study. *J Clin Diagn Res*, v. 10, n. 10, p. ZC55-ZC57, 2016.

CHAUDHRY, H.; WILDAN T.M.; POPAT, S.; ANAND R.; DHARIWAL D. Before you reach for the bleach. *Br Dent J*, v. 210, n. 4, p. 157-160, 2011.

CHIVATXARANUKUL, P.; DASHPER, S.G.; MESSER, H.H. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, v. 41, n. 10, p. 443-449, 2008.

CIVJAN, S.; HUGET, E.F.; DESIMON, L.B. Potential applications of certain nickel-titanium (nitinol) alloys. *J Dent Res*, v. 54, n. 1, p. 89-96, 1975.

CLAUDER, T.; BAUMANN, M.A. ProTaper NT system. *Dent Clin N Am*, v. 48, n. 1, p. 87-111, 2004.

COBANKARA, F.K.; OZKAN, H.B.; TERLEMEZ, A. Comparison of organic tissue dissolution capacities of sodium hypochlorite and chlorine dioxide. *J Endod*, v. 36, n. 2, p. 272-274, 2010.

COHEN, S.; BURNS, R. C. *Caminhos da Polpa*. 7. ed. Guanabara Koogan, 2000.

CORRÊA, B. *Influência de limas rotatórias de uso único e do movimento recíprocante no preparo químico-mecânico de canais radiculares*. 2015. 34 f. Especialização (Especialização em Endodontia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2015.

DAHLÉN, G.; SAMUELSSON, W.; MOANDER, A.; REIT, C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol*, v. 15, n. 5, p. 309-312, 2000.

D'AVIZ, F.S. Avaliação da eficácia antimicrobiana de instrumentos recíprocantes e uma substância química experimental. 2015. 105 f. Dissertação (Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Clínica Odontológica) – Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, RS, 2015.

DE ALMEIDA, A.P.; SOUZA, M.A.; MIYAGAKI, D.C.; DAL BELLO, Y.; CECCHIN, D.; FARINA, A.P. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite associated with passive ultrasonic irrigation on antimicrobial activity of a root canal system infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *J Endod*, v. 40, n. 12, p. 1953-1957, 2014.

DE-DEUS, G.; BRANDÃO, M.C.; BARINO, B.; DI GIORGI, K.; FIDEL, R.A.S.; LUNA, A.S. Assessment of apically extruded debris produced by the single-file ProTaper F2 technique under reciprocating movement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 110, n. 3, p. 390-394, 2010.

DE MELO MALTOS, S.M.; RIBEIRO SOBRINHO, A.P.; SILVA, F.V.; NICOLI, J.R.; DE CARVALHO, M.A.R.; VIEIRA, L.Q.; FARIAS, L.M. Bacterial concentrations determine the ability to implant in the root canal system and translocate to lymph nodes in germ-free mice. *J Endod*, v. 29, n. 1, p. 24-27, 2003.

DE PAULA, K.B. *Avaliação da Ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio por meio de diferentes modelos experimentais*. 2015. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica com Ênfase em Endodontia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

DE SERMEÑO, R.F.; DA SILVA, L.A.; HERRERA, H.; SILVA, R.A.B.; LEONARDO, M.R. Tissue damage after sodium hypochlorite extrusion during root canal treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 108, n. 1, p. e46-e49, 2009.

DISTEL, J.W.; HATTON, J.F.; GILLESPIE, M.J. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod*, v. 28, n. 10, p. 689-693, 2002.

DORNELLES-MORGENTAL, R.; GUERREIRO-TANOMARU, J.M.; DE FARIA-JÚNIOR, N.; HUNGARO-DUARTE, M.A.; KUGA, M.C.; TANOMARU-FILHO, M. Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 112, n. 3, p. 396-400, 2011.

DUARTE, M.A.H.; DE ALMEIDA, M.G.; SAKAMOTO, F.F.O.; YAMASHITA, J.C.; KUGA, M.C.; FRAGA, C.S. Avaliação da segurança de três sistemas de instrumentação no preparo de canais curvos. *Salusvita*, v. 20, n. 1, p. 81-87, 2001.

DUMANI, A.; GUVENMEZ, H.K.; YILMAZ, S.; YOLDAS, O.; KURKLU, Z.G. Antibacterial Efficacy of Calcium Hypochlorite with Vibriinge Sonic Irrigation System on *Enterococcus faecalis*: An In Vitro Study. *Biomed Res Int*. v. 2016, n. 2016, p. 01-05, 2016.

DUTTA, A.; SAUNDERS, W.P. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. *J Endod*, v. 38, n. 10, p. 1395-1398, 2012.

ELNAGHY, A.M.; ELSAKA, S.E. Evaluation of root canal transportation, centering ratio, and remaining dentin thickness associated with ProTaper Next instruments with and without glide path. *J Endod*, v. 40, n. 12, p. 2053-2056, 2014.

ESTRELA, C.; FIGUEIREDO, J.A. *Endodontia*. Princípios Biológicos e Mecânicos. São Paulo: Artes Médicas, 1999.

EVANS, M.; DAVIES, J.K.; SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J*, v. 35, n. 3, p. 221-228, 2002.

FARINA, A.P.; CECCHIN, D.; BARBIZAM, J.V.; CARLINI-JÚNIOR, B. Influence of endodontic irrigants on bond strength of a self-etching adhesive. *Aust Endod J*, v. 37, n. 1, p. 26-30, 2011.

FELMINGHAM, D.; WILSON, A.P.R.; QUINTANA, A.I.; GRÜNEBERG, R.N. *Enterococcus* species in urinary tract infection. *Clin Infec Dis*, v. 15, n. 2, p. 295-301, 1992.

FERRER-LUQUE, C.M.; BEJARANO, I.; RUIZ-LINARES.; BACA, P. Reduction in *Enterococcus faecalis* counts - a comparison between rotary and reciprocating systems. *Int Endod J*, v. 47, n. 4, p. 380-386, 2014.

FIGDOR, D.; DAVIES, J.K.; SUNDQVIST, G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol*, v. 18, n. 4, p. 234-239, 2003.

FORNARI, V.J.; SILVA-SOUSA, Y.T.C.; VANNI, J.R.; PÉCORÁ, J.D.; VERSIANI, M.A.; SOUSA-NETO, M.D. Histological evaluation of the effectiveness of increased apical enlargement for cleaning the apical third of curved canals. *Int Endod J*, v. 43, n. 11, p. 988-994, 2010.

FREGNANI, E.; HIZATUGU, R. *Endodontia: uma visão contemporânea*. São Paulo: Santos, 2012.

FROUGH-REYHANI, M.; GHASEMI, N.; SOROUGH-BARHAGHI, M.; AMINI, M.; GHOLIZADEH, Y. Antimicrobial efficacy of different concentration of sodium hypochlorite on the biofilm of *Enterococcus faecalis* at different stages of development. *J Clin Exp Dent*, v. 8, n. 5, p. 480-484, 2016.

FURIGA, A.; ROQUES, C.; BADET, C. Preventive effects of an original combination of grape seed polyphenols with amine fluoride on dental biofilm formation and oxidative damage by oral bacteria. *J Appl Microbiol*, v. 116, n. 4, p. 761-771, 2014.

GADANG, V.P.; HETTIARACHCHY, N.S.; JOHNSON, M.G.; OWENS, C. Evaluation of Antibacterial Activity of Whey Protein Isolate Coating Incorporated with Nisin, Grape Seed Extract, Malic Acid, and EDTA on a Turkey Frankfurter System. *J Food Sci*, v. 73, n. 8, p. M389-M394, 2008.

GAGLIARDI, J.; VERSIANI, M.A.; DE SOUZA-NETO, M.D.; PLAZAS-GARZON, A.; BASRANI, B. Evaluation of the Shaping Characteristics of ProTaper Gold, ProTaper NEXT, and ProTaper Universal in Curved Canals. *J Endod*, v. 41, n. 10, p. 1718-1724, 2015.

GHINZELLI, G.C.; SOUZA, M.A.; CECCHIN, D.; FARINA, A.P.; DE FIGUEIREDO, J.A. Influence of ultrasonic activation on photodynamic therapy over root canal system infected with *Enterococcus faecalis*--an in vitro study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, v. 11, n. 4, p. 472-478, 2014.

GHISI, A.C.; KOPPER, P.M.; BALDASSO, F.E.; STÜRMER, C.P.; ROSSI-FEDELE, G.; STEIER, L.; DE FIGUEIREDO, J.A.; MORGENTAL, R.D.; VIER-PELISSER, F.V. Effect of superoxidized water and sodium hypochlorite, associated or not with EDTA, on organic and inorganic components of bovine root dentin. *J Endod*, v. 41, n. 6, p. 925-930, 2015.

GHONMODE, W.N.; BALSARAF, O.D.; TAMBE, V.H.; SAUJANYA, K.P.; PATIL, A.K.; KAKDE, D.D. Comparison of the antibacterial efficiency of neem leaf extracts, grape seed extracts and 3% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* - An in vitro study. *J Int Oral Health*, v. 5, n. 6, p. 61-66, 2013.

GOMES, B.P.F.A.; FERRAZ, C.C.R.; VIANNA, M.E.; BERBER, V.B.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, v. 34, n. 6, p. 424-428, 2001.

GOMES, B.P.F.A.; PINHEIRO, E.T.; GADE-NETO, C.R.; SOUSA, E.L.; FERRAZ, C.C.; ZAIA, A.A.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol*, v. 19, n. 2, p. 71-76, 2004.

GRANINGER, W.; RAGETTE, R. Nasocomial bacteremia due to *E. faecalis* without endocarditis. *Clin Infect*, v. 15, n. 1, p. 49-57, 1992.

GRECCA, F.S. *Avaliação da eficácia dos métodos de instrumentação rotatória (sistema K3 e ProTaper), ultra-som e manual na remoção de corante aderido às paredes de canais radiculares com achatamento proximal. Estudo in vitro*. 2003. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2003.

GREEN, D. Double canals in single roots. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 35, n. 6, p. 689-696, 1973.

GURSOY, U.K.; BOSTANCI, V.; KOSGER, H.H. Palatal mucosa necrosis because of accidental sodium hypochlorite injection instead of anaesthetic solution. *Int Endod J*, v. 39, n. 2, p. 157-161, 2006.

HAAPASALO, M.; ENDAL, U.; ZANDI, H.; COIL, J.M. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endod Topics*, v. 10, [s.n], p. 77–102, 2005.

HAN, B.; JAUREQUI, J.; TANG, B. W.; NIMNI, M. E. Proanthocyanidin: a natural crosslinking reagent for stabilizing collagen matrices. *J Biomed Mater Res*, v.65, n.1, p.118-24, 2003.

HANCOCK, H.H.; SIGURDSSON, A.; TROPE, M.; MOISEIWITSCH, J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North Am population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 91, n. 5, p. 579–586, 2001.

HEMMATI, A.A.; FOROOZAN, M.; HOUSHMAND, G.; MOOSAVI, Z.B.; BAHADORAM, M.; MARAM, N.S. The topical effect of grape seed extract 2% cream on surgery wound healing. *Glob J Health Sci*, v. 7, n. 3, p. 52-58, 2015.

HIZATUGU, R.; KADO, E.; MENEGHINE, G.; MIYASAKI, E.; OKINO NETO, K.; OTANI, A.; NISHIOKA, M.; KOMATSU, S.; KIMURA, S.; FREGNANI, E. *Endodontia em Sessão Única*. São Paulo: Santos, 2007.

HÜBSCHER, W.; BARBABOW, F.; PETERS, O. A Root-canal preparation with FlexMaster: canal shapes analysed by micro-computed tomography. *Int Endod J*, v. 36, n. 11, p. 740-747, 2003.

HÜLSMANN, M.; HAHN, W. Complications during root canal irrigation: literature review and case reports. *Int Endod J*, v. 33, n. 3, p. 186-193, 2000.

HÜLSMANN, M.; PETERS, O.A.; DUMMER, P.M.H. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endod Topics*, v. 10, n. 1, p. 30–76, 2005.

JOHNSON, E.; LLOYD, A.; KUTTLER, S.; NAMEROW, K. Comparison between a novel nickel titanium alloy and 508 nitinol on the cyclic fatigue life of ProFile 25/.04 rotary instruments. *J Endod*, v. 34, n. 11 p. 1406–1409, 2008.

JOSHI, S. S.; KUSZYNSKI, C. A.; BAGCHI, D. The cellular and molecular basis of health benefits of grape seed proanthocyanidin extract. *Curr Pharm Biotechnol*, v.2, n.2, p.187-200, 2001.

KAKEHASHI, S.; SANLAY, H.R.; FITZBERALD, R.J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 20, n. 3, p. 340-349, 1965.

KAO, T.T.; TU, H.C.; CHANG, W.N.; CHEN, B.H, SHI, Y.Y.; CHANG, T.C, FU, T.F. Grape seed extract inhibits the growth and pathogenicity of *Staphylococcus aureus* by interfering with dihydrofolate reductase activity and folate- mediated one carbon metabolism. *Int J Food Microbiol*, v. 141, n. 1-2, p. 17-27, 2010.

KLEIER, D.J.; AVERBACH, R.E.; MEHDIPOUR, O. The sodium hypochlorite accident: experience of diplomates of the American Board of Endodontics. *J Endod*, v. 34, n. 11, p. 1346-1350, 2008.

KOÇAK, M.M.; ÇIÇEK, E.; KOÇAK, S.; SAĞLAM, B.C.; FURUNCUOĞLU, F. Comparison of ProTaper Next and HyFlex instruments on apical debris extrusion in curved canals. *Int Endod J*, [s.n], [s.v], 2015.

KOÇAK, S.; KOÇAK, M.M.; SAGLAM, B.C.; TÜRKER, S.A.; SAGSEN, B.; ER, O. Apical extrusion of debris using self-adjusting file, reciprocating single-file, and 2 rotary instrumentation systems. *J Endod*, v. 39, n. 10, p. 1278-1280, 2013.

KOCH, S.; HUFNAGEL, M.; THEILACKER, C.; HUEBNER, J. Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities. *Vaccine*, v. 22, n. 7, p. 822–830, 2004.

LEONARDO, M.R.; LEONARDO, R.T. *Tratamento de canais radiculares: avanços tecnológicos de uma endodontia minimamente invasiva e reparadora*. São Paulo: Artes Médicas, 2012. 472 p.

LEONARDO, N.G.; CARLOTTO, I.B.; LUISI, S.B.; KOPPER, P.M.; GRECCA, F.S.; MONTAGNER, F. Calcium Hypochlorite Solutions: Evaluation of Surface Tension and Effect of Different Storage Conditions and Time Periods over pH and Available Chlorine Content. *J Endod*, v. 42, n. 4, p. 641-645, 2016.

LI, S.H.; LU, Y.; SONG, D.; ZHOU, X.; ZHENG, Q.H.; GAO, Y.; HUANG, D.M. Occurrence of Dentinal Microcracks in Severely Curved Root Canals with ProTaper Universal, WaveOne, and ProTaper Next File Systems. *J Endod*, v. 41, n. 11, p. 1875-1879, 2015.

LOVE, R.M. *E. faecalis*: a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J*, v. 34, n. 5 p. 399–405, 2001.

MACHADO, M.E.L.; HADDAD FILHO, M.S.; AGUIAR, C.M. *Endodontia tópicos da atualidade*. Nova Odessa, SP: Napoleão, 2015. 408 p.

MACHADO, M.E.L.; NABESHIMA, C.K.; LEONARDO, M.F.P.; CARDENAS, J.E.V. Análise do tempo de trabalho da instrumentação recíproca com lima única: WaveOne e Reciproc. *Rev Assoc Paul Cir Dent*, v. 66, n. 2, p. 120-124, 2012.

MACHADO, M.E.L.; NABESHIMA, C.K.; LEONARDO, M.F.P.; REIS, F.A.S.; BRITTO, M.L.B.; CAI, S. Influence of reciprocating single-file and rotary instrumentation on bacterial reduction on infected root canals. *Int Endod J*, v. 46, n. 11, p. 1083-1087, 2013.

MARTINS, M.P.; DUARTE, M.A.; CAVENAGO, B.C.; KATO, A.S.; DA SILVEIRA BUENO, C.E. Effectiveness of the ProTaper Next and Reciproc Systems in Removing Root Canal Filling Material with Sonic or Ultrasonic Irrigation: A Micro-computed Tomographic Study. *J Endod*, v. 43, n. 3, p. 467-471, 2017.

MARROQUÍN, B.B.; EL-SAYED, M.A.A.; WILLERSHAUSEN-ZÖNNCHEN, B. Morphology of the physiological foramen: I. Maxillary and mandibular molars. *J Endod*, v. 30, n. 5, p. 321-328, 2004.

MATTUELLA, L.G.; MAZZOCATO, G.; VIER, F.V.; SÓ, M.V.R. Root canals and apical foramina of the buccal root of maxillary first premolars with longitudinal sulcus. *Braz Dent J*, v. 16, n. 1, p. 23-29, 2005.

MCHUGH, C.P.; ZHANG, P.; MICHALEK, S.; ELEAZER, P.D. pH Required to Kill *Enterococcus faecalis* in Vitro. *J Endod*, v. 30, n. 4, p. 218-219, 2004.

MERCADE, M.; DURAN-SINDREU, F.; KUTTLER, S.; ROIG, M.; DURANY, N. Antimicrobial efficacy of 4.2% sodium hypochlorite adjusted to pH 12, 7.5, and 6.5 in infected human root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 107, n. 2, p. 295-298, 2009.

MILLER, W.D. The decomposition of the contents of the dentinal tubules as a disturbing factor in the treatment of pulpless teeth. *Dent Cosmos*, v. 32, n. 5, p. 349-357, 1890.

MOORER, W.R.; WESSELINK, P.R. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int Endod J*, v. 15, n. 4, p. 187-196, 1982.

MOREIRA, D.M.; ALMEIDA, J.F.; FERRAZ, C.C.; GOMES, B.P.; LINE, S.R.; ZAIA, A.A. Structural analysis of bovine root dentin after use of different endodontics auxiliary chemical substances. *J Endod*, v. 35, n. 7, p. 1023-1027, 2009.

MOTTA, M.V.; CHAVES-MENDONCA, M.A.; STIRTON, C.G.; CARDOZO, H.F. Accidental injection with sodium hypochlorite: report of a case. *Int Endod J*, v. 42, n. 2, p. 175-182, 2009.

NAKAMURA, V.C.; CAI, S.; CANDEIRO, G.T.M.; FERRARI, P.H.; CALDEIRA, C.L.; GAVINI, G. Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. *Int Endod J*, v. 46, n. 3, p. 217-224, 2013.

NAENNI, N.; THOMA, K.; ZEHNDER, M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod*, v. 30, n. 11, p. 785-787, 2004;

OSZMIANSKI, J.; LEE, C.Y. Isolation and HPLC determination of phenolic compounds in red grapes. *Am J Enol and Vitic*, v. 39, [s.n], p. 259-262, 1990.

OZKAN, G.; SAGDIC, O.; OZCAN, M. Inhibition on pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. *Food Sci Technol Int*, v. 9, n. 2, p. 85-84, 2003.

PAIVA, J.G.; ANTONIAZZI, J.H. *Endodontia, bases para a prática clínica*. São Paulo: Artes Médicas Ltda; 1991.

PAQUÉ, F.; BALMER, M.; ATTIN, T.; PETERS, O.A. Preparation of oval-shaped root canals in mandibular molars using NiTi rotary instruments. *J Endod*, v. 36, n. 4, p. 703-707, 2010.

PAQUÉ, F.; ZEHNDER, M.; DE-DEUS, G. Microtomography-based comparison of reciprocating single-file F2 ProTaper technique versus rotary full sequence. *J Endod*, v. 37, n. 10, p. 1394-1397, 2011.

PASHLEY, E.L.; BIRDSONG, N.L.; BOWMAN, K.; PASHLEY, D.H. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. *J Endod*, v. 11, n. 12, p. 525-528, 1985.

PECIULIENE, V.; BALCIUNIENE, I.; ERIKSEN, V.M.; HAAPASALO, M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod*, v. 26, n. 10, p. 593-595, 2000.

PÉCORA, J.D.; CAPELLI, A. Shock of paradigms on the instrumentation of curved roots canal. *Braz Dent J*, v. 17, n. 1, p. 3-5, 2006.

PÉCORA, J.D.; SOUSA NETO, M.D.; SAQUY, P.C. Internal anatomy direction and number of roots and size of human mandibular canines. *Braz Dent J*, v. 4, n.1, p. 53-57, 1993.

PÉCORA, J.D.; WOELFEL, J.B.; SOUSA NETO, M.D.; ISSA, E.P. Morphology study of the maxillary molars part II: internal anatomy. *Braz Dent J*, v. 3, n. 1, p. 53-57, 1992.

PEREIRA E.J.S.; SINGH, R.; ARIAS, A.; PETERS, O.A. In vitro assessment of torque and force generated by novel ProTaper Next Instruments during Simulated Canal Preparation. *J Endod*, v. 39, n. 12, p. 1615-1619, 2013.

PETERS, L.B.; WESSELINK, P.R.; VAN WINKELHOFF, A.J. Combinations of bacterial species in endodontic infections. *Int Endod J*, v. 35, n. 8, p. 698-702, 2002.

PETERS, O.A.; LAIB, A.; GÖHRING, T.N.; BARBAKOW, F. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. *J Endod*, v. 27, n. 1, p. 1-6, 2001.

PINHEIRO, E. T.; GOMES, B.P.F.A.; FERRAZ, C.C.R.; SOUSA, E.L.R.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J*, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2003.

PLOTINO, G.; GIANSIRACUSA RUBINI, A.; GRANDE, N.M.; TESTARELLI, L.; GAMBARINI, G. Cutting efficiency of Reciproc and waveOne reciprocating instruments. *J Endod*, v. 40, n. 8, p. 1228-1230, 2014.

PLOTINO, G.; GRANDE, N.M.; TESTARELLI, L.; GAMBARINI, G. Cyclic fatigue of Reciproc and WaveOne reciprocating instruments. *Int Endod J*, v. 45, n. 7, p. 614-618, 2012.

PROTAPER NEXT ROTARY FILES. *Dentsply Tulsa Dental Specialties*. Disponível em: <http://www.tulsadentalspecialties.com/default/endodontics_brands/ProTaperNEXT.aspx>. Acesso: 19 out. 2015.

RETAMOZO, B.; SHABAHANG, S.; JOHNSON, N.; APRECIO, R.M.; TORABINEJAD, M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, v. 36, n. 3, p. 520-523, 2010.

RIBEIRO SOBRINHO, A.P.; BARROS, M.H.M.; NICOLI, JR. Experimental root canal infections in conventional and germ-free mice. *J Endod*, v. 24, n. 6, p. 405-408, 1998.

RÔÇAS, I.N.; SIQUEIRA, J.F.; SANTOS, K.R.N. Association of *Enterococcus faecalis* with diferente forms of periradicular diseases. *J Endod*, v. 30, n. 5, p. 315-320, 2004.

SAFE DRINKING WATER FOUNDATION WEB SITE. Available at: <http://www.safewater.org/PDFS/resourcesknowthefacts/WhatisChlorination.pdf>. Acessado em 06 de abril de 2017..

SAITO, M.; HOSOYAMA, H.; ARIGA, T.; KATAOKA, S.; YAMAJI, N. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. *J Agric Food Chem*, v. 46, n. 4, p. 1460-1464, 1998.

SANTOS, J. N.; CARRILHO, M.R.O.; DE GOES, M.F.; ZAIA, A.A.; GOMES, B.P.F.A.; DE SOUZA-FILHO, F.J.; FERRAZ, C.C.R. Effect of chemical irrigants on the bond strength of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. *J Endod*, v. 32, n. 11, p. 1088-1090, 2006.

SARNI-MANCHADO, P.; CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. Interactions of grape seed tannins with salivary proteins. *J Agric Food Chem*, v. 47, n. 1, p. 42-47, 1999.

SCHÄFER, E.; ERLER, M.; DAMMASCHKE, T. Comparative study on the ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo Instruments. Part 2. Cleaning effectiveness and shaping ability in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J*, v. 39, n. 3, p. 203-212, 2006.

SCHNEIDER, S.W. A comparison of canal preparations in straight and curved root. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 32, n. 2, p. 271-275, 1971.

SCHNEIDER, K.; KORKMAZ, Y.; ADDICKS, K.; LANG, H.; RAAB, W.H. Prion protein (PrP) in human teeth: an unprecedented pointer to PrP's function. *J Endod*, v. 33, n. 2, p. 110-113, 2007.

SEDGLEY, C.M.; LENNAN, S.L.; APPELBE, O.K. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals *ex vivo*. *Int Endod J*, v. 38, n. 10, p. 735-742, 2005.

SEDIGH-SHAMS, M.; GHOLAMI, A.; ABBASZADEGAN, A.; YAZDANPARAST, R.; SABERI NEJAD, M.; SAFARI, A.; NABAVIZADEH, M.; GHASEMI, Y. Antimicrobial Efficacy and Cytocompatibility of Calcium Hypochlorite Solution as a Root Canal Irrigant: An in Vitro Investigation. *Iran Endod J*, v. 11, n. 3, p. 169-174, 2016.

SEMANN, F.S.; FAGUNDES, F.S.; HARAGUSHIKU, G.; LEONARDI, D.P.; BARATTO FILHO, F. Endodontia mecanizada: a evolução dos sistemas rotatórios contínuos. *RSBO*, v. 6, n. 3, p. 297-309, 2009.

SERT, S.; BAYIRLI, G.S. Evaluation of the root canal configuration of the mandibular and maxillary permanent teeth by gender in the Turkish population. *J Endod*, v. 30, n. 6, p. 391-398, 2004.

SHILDER, H. Cleaning and shaping the root canal. *Dental Clinics of North America*, v. 18, n. 2, p. 269-296, 1974.

SHRESTHA, B.; THEERATHAVAJ, M.L.S.; THAWEBON, S.; THAWEBON, B. In vitro antimicrobial effects of grape seed extract on peri-implantitis microflora in craniofacial implants. *Asian Pac J Trop Biomed*, v. 2, n. 10, p. 822-825, 2012.

SILVEIRA, A.M.V.; LOPES, H.P.; SIQUEIRA Jr, J.F.; MACEDO, S.B.; CONSOLARO, A. Periradicular Repair after two-Visit Endodontic Treatment Using Two Different Intracanal Medicamentations Comparad to Single-Visit Endodontic Treatment. *Braz Dent J*, v. 18, n. 4, p. 299-304, 2007.

SILVEIRA, L.F.M.; DANESI, V.C.; BAISCH, G.S. Estudo das relações anatômicas entre os canais mesiais de molares inferiores an investigation of anatomical relations among molar mesial canals. *Revista de Endodontia Pesquisa e Ensino On Line*, v. 1, n. 2, 2005.

SINGLA, M.; AGGARWAL, V.; LOGANI, A.; SHAH, N. Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in *E. faecalis* colony-forming units and vertical root fracture resistance of root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 109, n. 3, p. e105-e110, 2010.

SIQUEIRA, J.F.; LIMA, K.C.; MAGALHAES, F.A.C.; LOPES, H.P.; DE UZEDA, M. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod*, v. 25, n. 5, p. 332-335, 1999.

SIQUEIRA, J. F.JR.; RÔÇAS, I.N.; FAVIERI, A.; LIMA, K.C. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod*, v. 26, n. 6, p. 331-334, 2000.

SIQUEIRA, J.F.; ALVES, F.R.F.; VERSIANI, M.A.; RÔÇAS, I.N.; ALMEIDA, B.M.; NEVES, M.A.S.; SOUSA-NETO, M.D. Correlative bacteriologic and micro-computed tomographic analysis of mandibular molar mesial canals prepared by self-adjusting file, reciproc, and twisted file systems. *J Endod*, v. 39, n. 8, p. 1044-1050, 2013.

SIREN, E.K.; HAAPASALO, M.P.P.; RANTA, K.; SALMI, P.; KEROSUO, E.N.J. Microbiological findings and clinical treatment

procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J*, v. 30, n. 2, p. 91-95, 1997.

SJÖGREN, U.; FIGDOR, D.; PERSSON, S.; SUNDQVIST, G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*, Oxford, v. 30, n. 5, p. 297-306, 1997.

SHIH, M.; MARSHALL, J.; ROSEN, S. The bactericidal efficiency of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant. *Oral Surg*, v. 29, n. 4, p. 613-619, 1970.

SOARES, I.J.; GOLDBERG, F. *Endodontia. Técnica e Fundamentos*. Porto Alegre: Artmed, 2001.

SOMERS, T.C.; ZIEMELIS, G. Spectral evaluation of total phenolic components in *Vitis vinifera*: grapes and wines. *J Sci Food Agric*, v. 36, [s.n], p. 1275-1284, 1985.

SOUZA, M.A.; DALLA LANA, D.; GABRIELLI, E.; BARBOSA RIBEIRO, M.; MIYAGAKI, D.C.; CECCHIN, D. Effectiveness of final decontamination protocols against *Enterococcus faecalis* and its influence on bond strength of filling material to root canal dentin. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, v. 17, n. p. 92-97, 2016.

SOUZA, R.A. The Importance of Apical Patency and Cleaning of the Apical Foramen on Root Canal Preparation. *Braz Dent J*, v. 17, n. 1, p. 6-9, 2006.

SPANGBERG, L., ENGSTRÖN, B.; LANGELAND, K. Biologic effects of dental materials 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics *in vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 36, n. 6, p. 856-870, 1973.

SPANGBERG, L. The wonderful world of rotary root canal preparation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 92, n. 5, p. 479, 2001.

STUART, C.H.; SCHWARTZ, S.A.; BEESON, T.J.; OWATZ, C.B. E. faecalis: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *J Endod*, v. 32, n. 2, p. 93-98, 2006.

SU, Y.S.; MORRISON III, D.T.; OGLE, R.A. Chemical kinetics of calcium hypochlorite decomposition in aqueous solution. *Journal of Chemical Health and Safety of the American Chemical Society*, [s.v], [s.n], [s.p], 2009.

SUNDQVIST, G. Bacteriologic studies of necrotic dental pulps. *Odontological Dissertation*, University of Umea, Sweden, n. 7, 1976.

SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D.; PERSON, S.; SJÖGREN, U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 85, n. 1, p. 86-93, 1998.

SWADAS, M.; DAVE, B.; VYAS, S.M.; SHAH, N. Evaluation and Comparison of the Antibacterial Activity against Streptococcus mutans of Grape Seed Extract at Different Concentrations with Chlorhexidine Gluconate: An in vitro Study. *Int J Clin Pediatr Dent*, v. 9, n. 3, p. 181-185, 2016.

TANEJA, S.; MISHRA, N.; MALIK, S. Comparative evaluation of human pulp tissue dissolution by different concentrations of chlorine dioxide, calcium hypochlorite and sodium hypochlorite: An in vitro study. *J Conserv Dent*, v. 17, n. 6, p. 541-545, 2014.

TEIXEIRA, F. B.; SANO, C.L.; GOMES, B.O.F.A.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C.C.R.; SOUZA-FILHO, F.J. A preliminary in vitro study of the incidence and position of the root canal isthmus in maxillary and mandibular first molars. *Int Endod J*, v. 36, n. 4, p. 276-280, 2003.

TENDOLKAR, P.M.; BAGHDAYAN, A.S.; SHANKAR, N. Pathogenic *Enterococci*: new developments in the 21st century. *Cell Mol Life Sci*, v. 60, n. 12, p. 2622-2636, 2003.

TONG, Z.; MA, J.; TAN, J.; HUANG, L.; LING, J. Effects of inactivated *Enterococcus faecalis* on the proliferation and osteogenic induction of osteoblasts. *Mol Med Rep*, v. 14, n. 6, p. 5125-5133, 2016.

TWOMEY, J.O.; ABDELAZIZ, K.M.; COMBE, E.C.; ANDERSON, D.L. Calcium hypochlorite as a disinfecting additive for dental stone. *J Prosth Dent*, v. 90, n. 3, p. 282-288, 2003.

USMAN, N.; BAUMGARTNER, J.C.; MARSHALL, J.G. Influence of instrument size on root canal debridement. *J Endod*, v. 30, n. 2, p. 110-112, 2004.

VERTUCCI, F.J. Root canal anatomy of human permanent teeth. *Oral Surg*, v. 58, n. 5, p. 589-599, 1987.

VIANNA, E.V. *Microbiologia e tratamento das infecções endodônticas*. 2006. 240 f. Tese (Doutorado em Clínica Odontológica) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2006.

VIANNA, M.E.; GOMES, B.P.F.A.; BERBER, V.B.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C.C.; SOUZA-FILHO, F.J. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 97, n. 1, p. 79-84, 2004.

VIDAL, C.M.P.; AGUIAR, T.R.; PHANSALKAR, R.; MCALPINE, J.B.; NAPOLITANO, J.G.; CHEN, S-N.; ARAÚJO, L.S.N.; PAULI, G.F.; BEDRAN-RUSSO, A. Galloyl moieties enhance the dentin biomodification potential of plant-derived catechins. *Acta Biomater*, v. 10, n. 7, p. 3288–3294, 2014.

XIE, Q.; BEDRAN-RUSSO, A.K.; WU, C.D. *In vitro* remineralization effects of grape seed extract on artificial root caries. *J Dent*, v. 36, n. 11, p. 900-906, 2008.

WALIA, H.; BRANTLE, W.A.; GERSTEIN, H. An initial investigation of the bending and torsional properties of nitinol root canal files. *J Endod*, v. 14, n. 7, p. 346-351, 1988.

WALKER, A. A definitive and dependable therapy for pulpless teeth. *J Am Assoc*, v. 23, n. 8, p. 1418-1424, 1936.

WANG, Z.; SHEN, Y.; HAAPASALO, M. Effectiveness of Endodontic Disinfecting Solutions against Young and Old *Enterococcus faecalis* Biofilms in Dentin Canals. *J Endod*, v. 38, n. 10, p. 1376–1379, 2012.

WEINE, F.S.; KELLY, R.F.; LIO, P.J. The effect of preparation procedures on original canal shape and on apical foramen shape. *J Endod*, v. 1, n. 8, p. 255-262, 1975.

WHITTAKER, H.A.; MOHLER, B.M. The sterilisation of milk bottles with calcium hypochlorite. *Am J Public Health*, v. 2, n. 4, p. 282-287, 1912.

WITTGOW, W.C.; SABISTON, C.B. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. *J Endod*, v. 1, n. 5, p. 168-171, 1975.

WU, C.D. Grape products and oral health. *J Nutr*, v. 139, n. 9, p. 1818S-1823S, 2009.

WU, M.K.; BARKIS, D.; RORIS, A.; WESSELINK, P.R. Does the first file to bind correspond to the diameter of the canal in the apical region? *Int Endod J*, Oxford, v. 35, n. 3, p. 264-267, 2002.

YARED, G. Canal preparation using only one NiTi Rotary instrument: preliminar observations. *Int Endod J*, v. 41, n. 4, 2007.

YARED, G. Canal preparation with only one reciprocating instrument without prior hand filing: A new concept. [s.v], [s.n], p. 1-8, 2011.

YOO, Y.; CHO, Y. A comparison of the shaping ability of reciprocating NiTi instruments in simulated curved canals. *RDE*, v. 37, n. 4, p. 220-227, 2012.

APÊNDICES

APÊNDICE 1

Parecer do Comitê de ética

UNIVERSIDADE DE PASSO
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE
PESQUISA E PÓS-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES ASSOCIADAS A DIFERENTES TÉCNICAS DE PREPARO DO CANAL RADICULAR

Pesquisador: Douglas Cecchin

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 53619816.8.0000.5342

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.472.852

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo experimental delineado para avaliar a atividade antimicrobiana de diferentes substâncias químicas em canais radiculares de dentes extraídos.

Objetivo da Pesquisa:

Conforme apontado pelo pesquisador: o estudo tem objetivo de avaliar a redução microbiana em canais radiculares de molares inferiores extraídos (Biobanco) contaminados com *E. faecalis* utilizando diferentes substâncias químicas auxiliares e técnicas de instrumentação.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme relatado, o estudo não oferece risco, pois serão utilizados dentes humanos extraídos e obtidos de um biobanco.

Benefícios: os resultados da pesquisa poderão ser aplicados clinicamente no tratamento de pacientes

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo laboratorial experimental, que avaliará o potencial antimicrobiano de diferentes substâncias químicas e métodos mecânicos em canais radiculares de dentes extraídos.

Endereço: BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo
Bairro: DMão de Pesquisa / São José **CEP:** 99.052-900
UF: RS **Município:** PASSO FUNDO
Telefone: (54)3316-8157 **E-mail:** cep@upf.br

UNIVERSIDADE DE PASSO
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE
PESQUISA E PÓS-



Continuação do Parecer: 1.472.852

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

"Os direitos fundamentais dos participantes foram garantidos no projeto. O protocolo foi instruído e apresentado de maneira completa e adequada. Os compromissos do pesquisador e das instituições estavam presentes. O projeto foi considerado claro em seus aspectos científicos, metodológicos e éticos."

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

"Diante do exposto, este Comitê, de acordo com as atribuições definidas na Resolução n. 466/12, do Conselho Nacional da Saúde, Ministério da Saúde, Brasil, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa na forma como foi proposto. "

Considerações Finais e critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_669054.pdf	29/02/2016 08:46:20		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	29/02/2016 08:45:44	Doglas Cecchin	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Consentimento.pdf	25/02/2016 11:10:00	Doglas Cecchin	Aceito
Outros	Declaracao_Biosecuranca.pdf	25/02/2016 11:06:08	Doglas Cecchin	Aceito
Outros	TCUD_.pdf	25/02/2016 11:05:11	Doglas Cecchin	Aceito
Outros	Declaracao_nao_iniciada_pesquisa.pdf	25/02/2016 11:04:04	Doglas Cecchin	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_final_PPGODONTO.pdf	25/02/2016 11:00:25	Doglas Cecchin	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	banco_de_dentes.pdf	25/02/2016 10:59:34	Doglas Cecchin	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Endereço: BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo
Bairro: Divisão de Pesquisa / São José CEP: 99.052-900
UF: RS Município: PASSO FUNDO
Telefone: (54)3316-8157 E-mail: osp@upf.br

UNIVERSIDADE DE PASSO
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE
PESQUISA E PÓS-



Continuação do Parecer: 1.472.852

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PASSO FUNDO, 30 de Março de 2016

Assinado por:
Felipe Cittolin Abal
(Coordenador)

APÊNDICE 2

Tabela 3: Testes de Normalidade do Estudo Piloto para as Soluções Químicas Auxiliares.

Séries #1 (SORO FIS)			
<i>Tamanho da amostra</i>	10	<i>Média</i>	0,00000
<i>Desviação padrão</i>	0,00000	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	#N/A	<i>Curtose</i>	#N/A
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	#N/A	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	#N/A
	Estatísticas do teste	<i>p-nível</i>	Conclusão: (5%)
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,00000	1,00000	<i>Nenhuma evidência contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	1,00000	1,00000	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	#N/A	#N/A	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	#N/A	1,00000	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	#N/A	#N/A	<i>Rejeitar Normalidade</i>

Aviso: SORO FIS não tem variância. Não pode produzir tabela de frequência e histograma!

Séries #2 (GSE 10%)			
<i>Tamanho da amostra</i>	10	<i>Média</i>	10,03500
<i>Desviação padrão</i>	1,16046	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	1,39782	<i>Curtose</i>	3,99228
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	1,65761	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	2,71850
	Estatísticas do teste	<i>p-nível</i>	Conclusão: (5%)
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,25653	0,06103	<i>Evidência sugestiva contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,81476	0,02190	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	2,34468	0,01904	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	1,74337	0,08127	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	8,53685	0,01400	<i>Rejeitar Normalidade</i>

Séries #3 (GSE 30%)			
<i>Tamanho da amostra</i>	10	<i>Média</i>	11,97200
<i>Desviação padrão</i>	0,47995	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	-0,06684	<i>Curtose</i>	1,64048
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	-0,07926	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	-1,43914
	Estatísticas do teste	<i>p-nível</i>	Conclusão: (5%)
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,15696	0,69188	<i>Nenhuma evidência</i>

			<i>contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,93242	0,47211	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	0,11960	0,90480	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	-1,30260	0,19271	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	1,71107	0,42506	<i>Aceitar normalidade</i>

Séries #4 (GSE 50%)

<i>Tamanho da amostra</i>	10	<i>Média</i>	13,07100
<i>Desviação padrão</i>	0,65438	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	-0,33387	<i>Curtose</i>	2,70507
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	-0,39592	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	0,44290
	<i>Estatísticas do teste</i>	<i>p-nível</i>	<i>Conclusão: (5%)</i>
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,12745	0,91668	<i>Nenhuma evidência contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,97052	0,89563	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	0,59504	0,55182	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	0,53016	0,59600	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	0,63513	0,72792	<i>Aceitar normalidade</i>

Séries #5 (NaOCl 6%)

<i>Tamanho da amostra</i>	10	<i>Média</i>	18,51600
<i>Desviação padrão</i>	1,36936	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	0,27004	<i>Curtose</i>	1,72627
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	0,32023	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	-1,28749
	Estatísticas do teste	<i>p-nível</i>	Conclusão: (5%)
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,17359	0,53392	<i>Nenhuma evidência contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,94190	0,57432	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	0,48198	0,62982	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	-1,09984	0,27140	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	1,44195	0,48628	<i>Aceitar normalidade</i>

Séries #6 (Ca(ClO)₂ 2,5%)

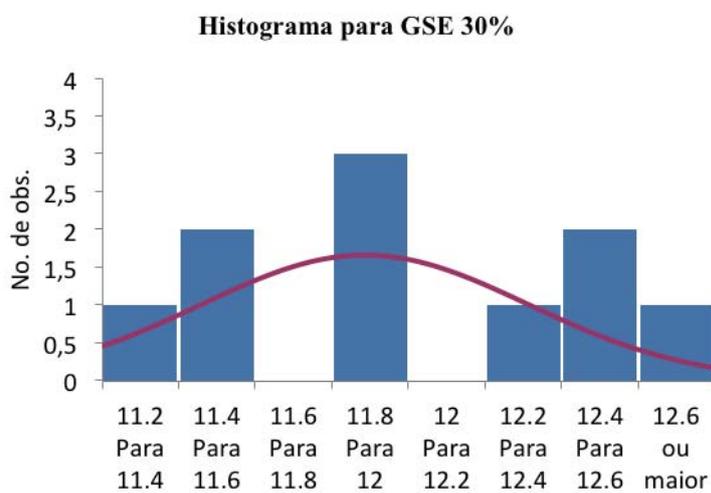
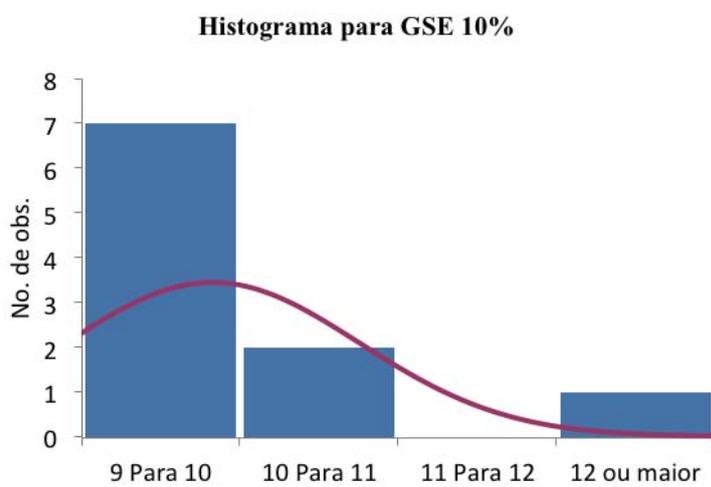
<i>Tamanho da amostra</i>	10	<i>Média</i>	22,34300
<i>Desviação padrão</i>	4,96018	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	0,84479	<i>Curtose</i>	2,87843
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	1,00179	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	0,74936
	Estatísticas do teste	<i>p-nível</i>	Conclusão: (5%)
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,20571	0,26870	<i>Nenhuma evidência</i>

			<i>contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,90961	0,27833	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	1,47347	0,14062	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	0,73525	0,46219	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	2,71171	0,25773	<i>Aceitar normalidade</i>

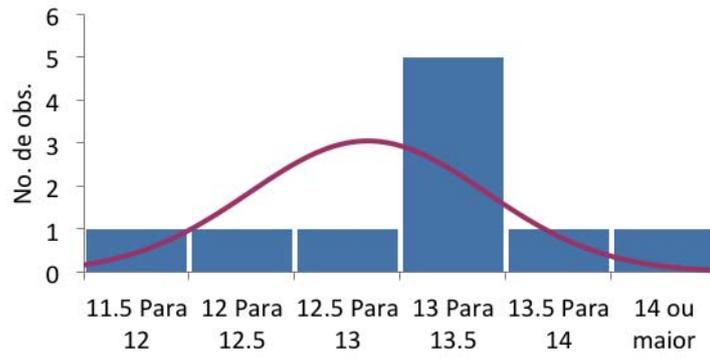
Séries #7 (Ca(ClO)₂ 6%)

<i>Tamanho da amostra</i>	10	<i>Média</i>	29,81500
<i>Desviação padrão</i>	8,22938	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	0,42918	<i>Curtose</i>	2,26517
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	0,50894	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	-0,33479
	<i>Estatísticas do teste</i>	<i>p-nível</i>	<i>Conclusão: (5%)</i>
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,14619	0,78877	<i>Nenhuma evidência contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,97337	0,92022	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	0,76283	0,44556	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	-0,08193	0,93471	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	0,58863	0,74504	<i>Aceitar normalidade</i>

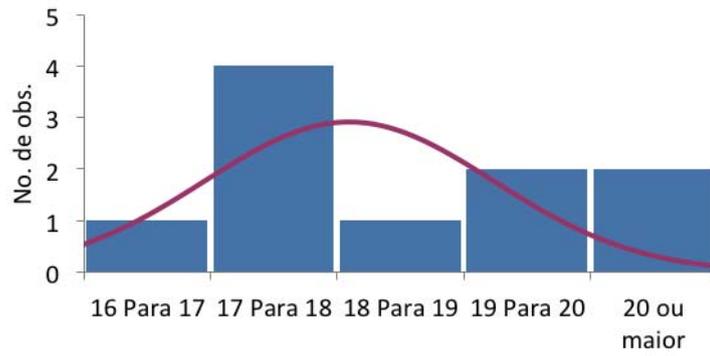
Histograma 1: Testes de Normalidade do Estudo Piloto para as Soluções Químicas Auxiliares.



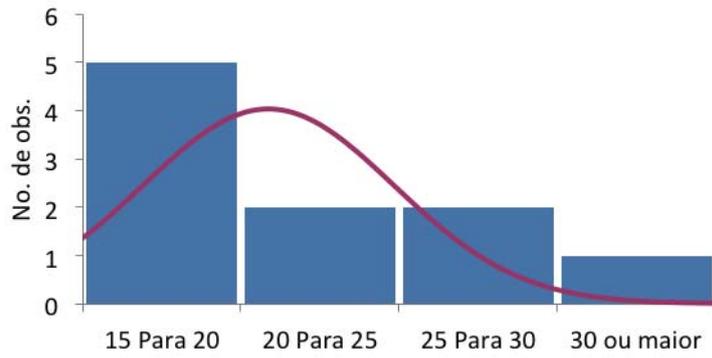
Histograma para GSE 50%



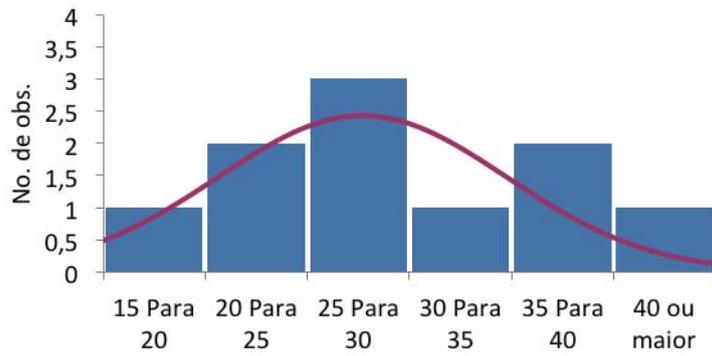
Histograma para NaOCI 6%



Histograma para $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 2,5%



Histograma para $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 6%



APÊNDICE 3

Tabela 4: Testes de Normalidade da análise de técnicas e substâncias utilizadas para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares.

Séries #1 (Grupo1)			
	Estatísticas do teste	<i>p</i> -nível	Conclusão: (5%)
<i>Tamanho da amostra</i>	11	<i>Média</i>	98,02364
<i>Desviação padrão</i>	2,81232	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	-1,74195	<i>Curtose</i>	5,29203
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	-2,02997	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	4,65339
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,08898	0,99917	Nenhuma evidência contra a normalidade
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,74094	0,00158	Rejeitar Normalidade
<i>D'Agostino Distorção</i>	2,86504	0,00417	Rejeitar Normalidade
<i>D'Agostino Curtose</i>	2,45750	0,01399	Rejeitar Normalidade
<i>D'Agostino Omnibus</i>	14,24777	0,00081	Rejeitar Normalidade

Séries #2 (Grupo2)			
<i>Tamanho da amostra</i>	11	<i>Média</i>	99,64782
<i>Desviação padrão</i>	0,53799	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	-1,03577	<i>Curtose</i>	2,48559
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	-1,20703	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	-0,02401
	Estatísticas do teste	<i>p-nível</i>	Conclusão: (5%)
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,08646	0,99973	<i>Nenhuma evidência contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,70806	0,00059	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	1,82072	0,06865	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	0,18809	0,85081	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	3,35041	0,18727	<i>Aceitar normalidade</i>

Séries #3 (Grupo3)			
<i>Tamanho da amostra</i>	11	<i>Média</i>	99,78900
<i>Desviação padrão</i>	0,37164	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	-1,73206	<i>Curtose</i>	4,84175
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	-2,01845	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	3,90292
	Estatísticas do teste	<i>p-nível</i>	Conclusão: (5%)

<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,11327	0,95827	<i>Nenhuma evidência contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,66104	0,00015	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	2,85170	0,00435	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	2,22409	0,02614	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	13,07879	0,00145	<i>Rejeitar Normalidade</i>

Séries #4 (Grupo4)

<i>Tamanho da amostra</i>	11	<i>Média</i>	99,55636
<i>Desviação padrão</i>	0,49050	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	-0,74233	<i>Curtose</i>	2,20098
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	-0,86507	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	-0,49837
	Estatísticas do teste	p-nível	Conclusão: (5%)
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,18288	0,38339	<i>Nenhuma evidência contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,85460	0,04900	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	1,33296	0,18255	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	-0,24784	0,80426	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	1,83820	0,39888	<i>Aceitar normalidade</i>

Séries #5 (Grupo5)

<i>Tamanho da amostra</i>	11	<i>Média</i>	97,32936
<i>Desviação padrão</i>	2,46012	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	-1,00035	<i>Curtose</i>	2,95603
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	-1,16576	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	0,76005
	Estatísticas do teste	<i>p-nível</i>	Conclusão: (5%)
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,13883	0,80097	<i>Nenhuma evidência contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,88439	0,11824	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	1,76345	0,07783	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	0,77148	0,44042	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	3,70492	0,15685	<i>Aceitar normalidade</i>

Séries #6 (Grupo6)

<i>Tamanho da amostra</i>	11	<i>Média</i>	96,71527
<i>Desviação padrão</i>	2,11546	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	-0,77826	<i>Curtose</i>	2,91627
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	-0,90694	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	0,69378
	Estatísticas do teste	<i>p-nível</i>	Conclusão: (5%)
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,12113	0,92334	<i>Nenhuma evidência contra a</i>

<i>Teste de Shapiro-Wilk</i>	0,91796	0,30205	<i>normalidade</i>
			<i>Aceitar</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	1,39423	0,16325	<i>normalidade</i>
			<i>Aceitar</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	0,72741	0,46697	<i>normalidade</i>
			<i>Aceitar</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	2,47300	0,29040	<i>normalidade</i>
			<i>Aceitar</i>

Séries #7 (Grupo7)

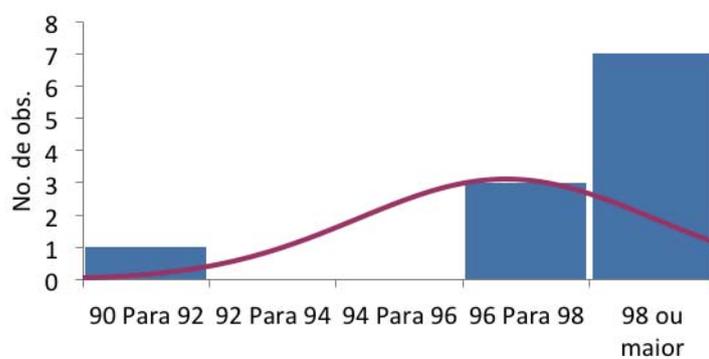
<i>Tamanho da amostra</i>	11	<i>Média</i>	87,93718
<i>Desviação padrão</i>	9,39114	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	-1,16031	<i>Curtose</i>	2,86247
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	-1,35216	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	0,60411
	<i>Estatísticas do teste</i>	<i>p-nível</i>	<i>Conclusão: (5%)</i>
<i>Teste de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefor</i>	0,19819	0,26413	<i>Nenhuma evidência contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk</i>	0,79069	0,00710	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	2,01847	0,04354	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	0,66641	0,50515	<i>Aceitar normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	4,51832	0,10444	<i>Aceitar normalidade</i>

Séries #8 (Grupo8)

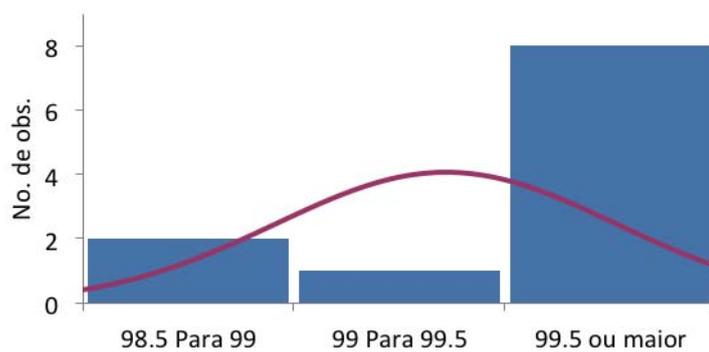
<i>Tamanho da amostra</i>	11	<i>Média</i>	89,22900
<i>Desviação padrão</i>	5,77317	<i>Mediano</i>	0,00000
<i>Distorção</i>	-1,92349	<i>Curtose</i>	6,19734
<i>Distorção alternativa (de Fisher)</i>	-2,24153	<i>Curtose alternativa (de Fisher)</i>	6,16223
	<i>Estatísticas do teste</i>	<i>p-nível</i>	<i>Conclusão: (5%)</i>
<i>Teste de Kolmogorov- Smirnov/Lilliefor</i>	0,15803	0,61956	<i>Nenhuma evidência contra a normalidade</i>
<i>Teste de Shapiro-Wilk W</i>	0,76608	0,00337	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Distorção</i>	3,10390	0,00191	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Curtose</i>	2,85324	0,00433	<i>Rejeitar Normalidade</i>
<i>D'Agostino Omnibus</i>	17,77518	0,00014	<i>Rejeitar Normalidade</i>

Histograma 2: Testes de Normalidade da análise de técnicas e substâncias utilizadas para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares.

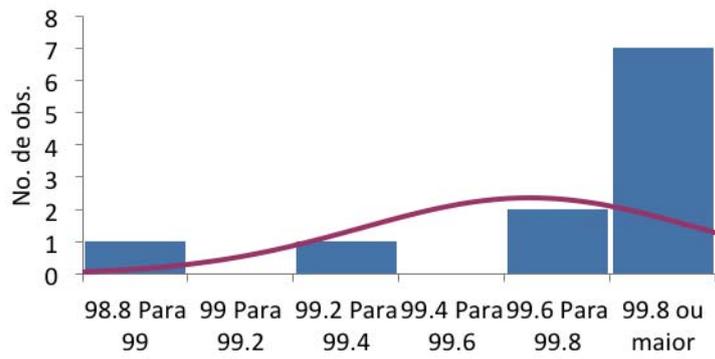
Histograma para Grupo1



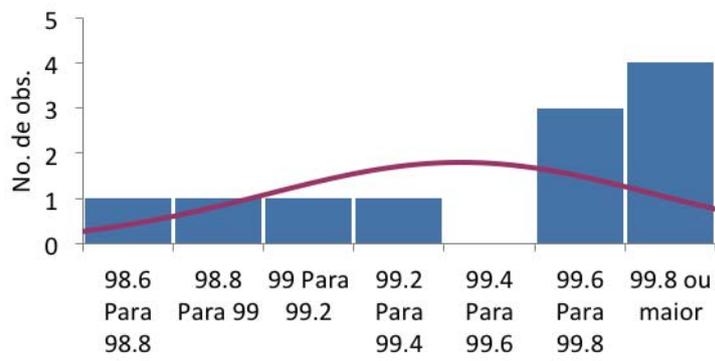
Histograma para Grupo2



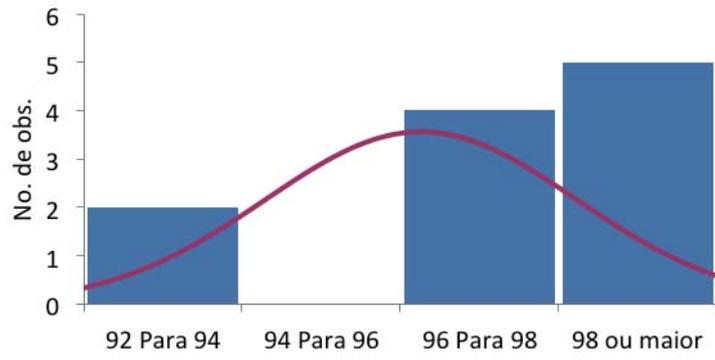
Histograma para Grupo3



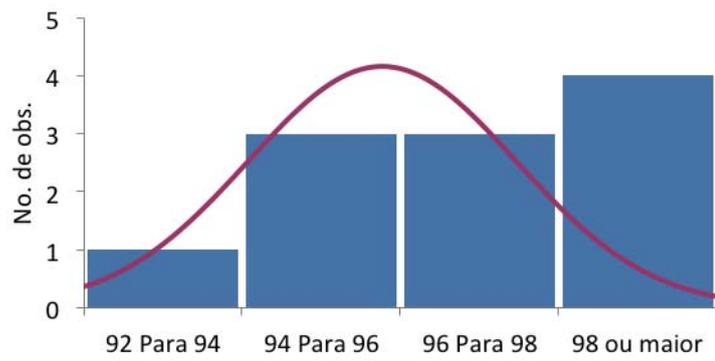
Histograma para Grupo4



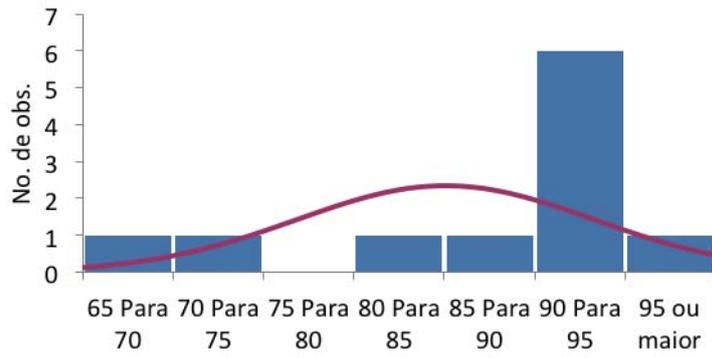
Histograma para Grupo5



Histograma para Grupo6



Histograma para Grupo7



Histograma para Grupo8

