

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

Fernando Soveral D'Aviz

**Avaliação da eficácia antimicrobiana de
instrumentos reciprocantes e uma substância
química experimental**

Passo Fundo

2015

Fernando Soveral D'Aviz

**Avaliação da eficácia antimicrobiana de
instrumentos reciprocantes e uma substância
química experimental**

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. Doglas Cecchin e co-orientação do prof. Dr. Matheus Albino Souza.

Passo Fundo

2015

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 DO AUTOR

Fernando Soveral D'Aviz nasceu em Passo Fundo em 21 de Janeiro de 1985. Realizou sua formação acadêmica na Universidade de Passo Fundo (UPF), colando grau em 2008. Registrado no Conselho Regional de Odontologia sob o número 17732, possui o título de especialista em Endodontia da Universidade de Passo Fundo concluída no ano de 2010, e especialização em Implantodontia pelo Instituto de Pós Graduação em Odontologia (Odontopós- Porto Alegre –RS) finalizada em 2012. No período de 2008 há 2010 atuou como Cirurgião Dentista na prefeitura Municipal de Soledade-RS. Atualmente é professor do Curso de Especialização em Endodontia do Instituto de Pós Graduação em Odontologia (Odontopós), e atua em seu consultório particular na cidade de Soledade-RS.

DEDICATÓRIA

Ao meu pai João Alfredo, que sempre me ensinou o valor do estudo e sua importância, pois nunca poderão nos tirar o conhecimento.

A minha mãe Solange, por tudo amor carinho, apoio e compreensão ao longo destes anos.

As minhas queridas irmãs Cristiane e Luciane pelo companheirismo, apoio e amor.

Ao meu padrinho Moacir, que me apresentou a odontologia, por seus ensinamentos e sua valiosa amizade.

A Renata pelo incentivo para eu fazer o mestrado e por toda a ajuda e companheirismo nos momentos difíceis.

Aos meus mestres João Vicente Barbizam e Miriam Lago, os quais sempre tive como exemplos por seus ensinamentos, suas competências profissionais, seus caracteres e principalmente por despertar em mim o amor à arte da Endodontia.

A amiga Larissa Magnus pela confiança em mim depositada para fazer parte da equipe de Endodontia do curso de Especialização da Odontopós e por proporcionar meu primeiro contato com a docência.

AGRADECIMENTOS

Ao Grande Arquiteto do Universo por me proporcionar saúde e forças durante ao longo desta jornada.

A toda minha família pelo apoio, e compreensão durante os períodos mais difíceis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Douglas Cecchin, pelos ensinamentos, disposição, atenção, incentivo e confiança depositada em mim, meu eterno respeito e gratidão.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Matheus Albino Souza, pela ajuda.

Aos demais professores do PPGOdonto, pela excelente formação durante estes 2 anos e pela amizade, confiança, e ensinamentos.

Aos meus queridos colegas pelo companheirismo e ajuda durante toda esta jornada.

À acadêmica Priscila De Marco por sua ajuda durante a realização desta pesquisa.

A Leticia Giacomini por toda ajuda durante o período o qual estive no Laboratório do ICB e por sua paciência e amizade.

À secretária do PPGOdonto Fabiana Pimentel, por toda sua alegria, ajuda e apoio.

E aos demais que de alguma forma contribuíram para realização desta importante etapa em minha vida.

MUITO OBRIGADO DE CORAÇÃO!

SUMÁRIO

BIOGRAFIA DO AUTOR.....	5
DEDICATÓRIA.....	6
SUMÁRIO	8
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS	14
RESUMO	15
ABSTRACT	17
INTRODUÇÃO	19
REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 Enterococcus faecalis	23
2.2 Sistema Reciprocante	24
2.2.1 Manutenção da anatomia.....	25
2.2.2 Capacidade de remoção de debris	27
2.2.3 Avaliação da resitência cíclica	32
2.3 Alargamento Apical	33
2.4 Substâncias químicas auxiliares	37
2.4.1 Hipoclorito de Sódio	37

2.4.2 Clorexidina.....	40
2.4.3 Extrato de Semente de Uva.....	43
PROPOSIÇÃO.....	46
CAPÍTULO I.....	47
Resumo.....	48
Introdução.....	49
Materiais e Métodos.....	50
Preparo das raízes.....	50
Preparação das Bactérias e Contaminação.....	51
Divisão dos Grupos.....	51
Análise Microbiológica.....	53
Análise Estatística.....	53
Resultados.....	54
Discussão.....	54
Referências.....	57
CAPÍTULO II.....	61
Resumo.....	62
Introdução.....	63
Materiais e Métodos.....	64
Preparação das Bactérias e Contaminação.....	64
Divisão dos Grupos.....	65
Análise Microbiológica.....	67
Análise Estatística.....	67
Discussão.....	69
Referências.....	72
REFERÊNCIAS.....	76
APÊNDICE 1.....	89
APÊNDICE 2.....	92

APÊNDICE 3	97
APÊNDICE 4	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de UFC/mL (média \pm desvios-padrão) antes e após o preparo com diferentes técnicas

Tabela 2- Número de UFC/mL (média \pm desvios-padrão) antes e após o preparo com diferentes substâncias químicas auxiliares

Tabela 3- Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem. Grupo R25

Tabela 4- Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem.. Grupo R25 + Mtwo

Tabela 5 - Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem. Grupo soro fisiológico

Tabela 6 - Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem. Grupo Hipoclorito de sódio 5,25%

Tabela 7- Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem. Grupo Clorexidina Gel 2%

Tabela 8 - Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logaritmo e redução bacteriana expressa em porcentagem. Grupo Extrato semente de uva Gel 6,5 %

Tabela 9 - Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logaritmo e redução bacteriana expressa em porcentagem. Grupo Extrato semente de uva líquida 6,5%.

LISTA DE FIGURAS

Fig 1. Caldo *E. faecalis* (American Type Collection 19433).

Fig 2. Contaminação das amostras com *E. faecalis*

Fig 3. Amostras no suporte após renovação do caldo de *E. faecalis*

Fig 4. Culturas em ágar sangue para verificar a ausência de outros microrganismos além de *E. faecalis*.

Fig 5. Preenchimento do canal radicular com solução salina estéril antes da inserção do cone de papel.

Fig 6. Inserção do cone de papel no canal para mensuração da contaminação inicial.

Fig. 7 Dissolução da contaminação em solução salina estéril.

Fig. 8 Preenchimento da placa de Petry com diferentes diluições da contaminação, pela técnica das 5 gotas.

Fig. 9 Inserção do cone para mensuração da contaminação final

Fig 10 Contagem da contaminação inicial.

Fig. 11 Contagem da contaminação final.

LISTA DE ABREVIATURAS

μ TC- Microtomografia

Diâmetro

Ca(OH)₂- Hidróxido de cálcio

CHX - Digluconato de clorexidina

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

GSE- Extrato de semente de uva

MEV - Microscópio eletrônico de varredura

mL - mililitros

mm – milímetros

MTAD – Mistura de Tetraciclina, Ácido Cítrico, Detergente

NaOCl - Hipoclorito de sódio

qPCR- Reação em cadeia da polimerase

rpm - Rotações por minuto

PAs- Protoancinidinas

s- segundos

SAF- Self Adjusting File

UFC_s- Unidades formadoras de colônias

X- Vezes

RESUMO

O principal objetivo da terapia endodôntica é a redução e eliminação dos microorganismos presentes nos sistemas de canais radiculares. Para o alcançar este objetivo é necessário a associação da ação física dos instrumentos endodônticos com a ação química das substâncias químicas auxiliares, realizando o preparo químico mecânico. Por isso, este estudo teve como objetivo avaliar a redução bacteriana obtida por diferentes técnicas de instrumentação e substâncias químicas auxiliares. Para isto dividiu-se em dois experimentos, no primeiro 50 raízes méso-vestibulares de molares superiores foram contaminadas com *Enterococcus faecalis* e divididas em 4 grupos: G1 (controle negativo), (n=5) raízes esterilizadas não sofreram contaminação; G2 (controle positivo), (n=5) raízes contaminadas que não sofreram nenhum procedimento de descontaminação; G3, (n = 20) preparo com Reciproc R25; G4, (n = 20) preparo com Reciproc R25 associado ao instrumento Mtwo 40.04. Para o segundo estudo contaminou-se com *Enterococcus faecalis* 50 raízes disto-vestibulares de molares superiores dividindo-as em 6 grupos: G1, (n=5) controle negativo; G2, (n=5) controle positivo; G3, (n=10) NaOCl 5,25% + EDTA 17%; G4, (n=10) Clorexedina Gel 2% associada a soro fisiológico + EDTA 17%; G5, (n=10) Extrato de Semente de Uva à 6,5% (GSE) + EDTA 17%; G6, (n=10) GSE à 6,5% em gel associada a soro fisiológico + EDTA 17%. Os dados foram submetidos a análise estatística de Anova no primeiro estudo e no segundo foi utilizado os testes de Anova/Tukey. Os resultados obtidos demonstraram que não houve diferenças estatisticamente significante para as técnicas de instrumentação

no primeiro estudo. No entanto o NaOCl apresentou o maior índice de descontaminação sendo estatisticamente superior à clorexidina que apresentou resultados intermediários; já os grupos GSE e soro fisiológico apresentaram resultados estatisticamente similares. A partir dos resultados, pode-se concluir que a adição de um instrumento após o uso do Reciproc R25 não aumenta a capacidade de descontaminação e o NaOCl foi a substância que apresentou a maior descontaminação de canais radiculares.

Palavras-chave: técnica de instrumentação, movimento recíprocante, clorexidina, extrato de semente de uva, hipoclorito de sódio.

ABSTRACT¹

The major goal of the endodontic therapy is the reduction or elimination of microorganisms present in the root canals. To achieve this objective, the association of physical action of endodontic instruments with the chemical action of auxiliary substances is required, performing a chemical and mechanical preparation of the root canal. This study aimed to evaluate the reduction in bacterial levels obtained by different techniques of instrumentation and auxiliary chemicals. To determine the antimicrobial effectiveness of reciprocating instruments, 50 mesiobuccal roots of maxillary molars were contaminated with *Enterococcus faecalis* and divided into 4 groups: G1 (n=5), sterile roots with no contamination (negative control); G2 (n=5) contaminated roots (positive control); G3 (n=20) root preparation with Reciproc R25; and G4 (n=20) preparation with Reciproc R25 associated with the instrument Mtwo 40.04. The potential of decontamination of an experimental chemical irrigant was determined by using 50 distobuccal roots from the same teeth. Roots were contaminated with *E. faecalis* and divided into 6 groups: G1 (n= 5) negative control; G2 (n= 5) positive control; G3 (n= 10) 5.25% sodium hypochlorite (NaOCl) + 17% EDTA; G4 (n= 10) 2% Chlorhexidine (CHX) gel and physiologic solution + 17% EDTA; and G5 (n= 10) 6.5% Grape Seed Extract

¹ Evaluation of the antimicrobial efficacy of reciprocating instruments and a experimental chemical substance.

(GSE) + 17% EDTA; G6 (n= 10) 6.5% GSE and physiologic solution + 17% EDTA. Data were statistically analyzed by ANOVA in first study and ANOVA/Tukey in second study . The results demonstrated that there were no statistically significant differences in antimicrobial effectiveness for the techniques of instrumentation. However, NaOCl presented the highest index of decontamination being statistically superior to CHX, which showed intermediate results. GSE and saline presented results statistically similar. It can be concluded that the use of an instrument after Reciproc R25 does not increase the capacity of decontamination. Moreover, NaOCl is the substance with the greatest decontamination potential of root canals.

Key words: instrumentation techniques, reciprocating motion, chlorhexidine, grape-seed extract, sodium hypochlorite,

INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico tem como objetivo principal a redução e eliminação de microorganismos e seus sub-produtos, tendo em vista que estes estão intimamente ligados à formação e manutenção das patologias que acometem os tecidos pulpare e periapicais (SUNDQVIST et al., 1998). Nesse sentido, tem-se como consenso na literatura endodôntica a utilização do preparo químico mecânico dos canais radiculares como melhor método para alcançar tais objetivos (SIQUEIRA et al., 1999).

A técnica de instrumentação manual ainda é a mais utilizada. No entanto, de forma progressiva está ocorrendo a aplicação de preparos mecanizados, tais como: instrumentação rotatória e reciprocante para o preparo dos canais radiculares (MACHADO et al., 2013). A instrumentação rotatória quando comparada a técnica manual apresenta certas vantagens tais como: preparos mais centralizados, menor tempo operatório e uma maior facilidade de realização do preparo do canal radicular (BARBIZAM et al., 2002; AL-SUDANI; AL-SHAHRANI, 2006; GARCIA et al., 2012; CAPAR et al., 2014; GERGI et al., 2014;

PLOTINO et al., 2014). Além dessas características em comum a técnica recíproca proporciona uma redução do risco da fratura do instrumento (YARED, G., 2008), além de realizar preparos mais rápidos em relação às técnicas manuais e rotatórias (PLOTINO et al., 2012). Este movimento Recíproca, possibilita que o canal radicular seja preparado com a utilização de apenas um único instrumento (YARED, G., 2008). Todavia, devido ao fato de ser uma proposta nova, há a necessidade de uma investigação da efetividade de tal técnica na desinfecção dos canais radiculares.

Outro aspecto importante durante a fase de instrumentação dos canais radiculares é a utilização de substâncias químicas auxiliares. Estas assumem um importante papel na desinfecção dos canais radiculares visto que somente os instrumentos endodônticos não são capazes de realizar uma adequada limpeza redução bacteriana (SIQUEIRA et al., 1999; GRANDE et al., 2008; ZHAO et al., 2014)

O Hipoclorito de Sódio (NaOCl) é a solução mais comumente utilizada como irrigante dos canais radiculares (ZEHNDER, 2006). No entanto, sua aplicação apresenta certos inconvenientes, tais como: irritabilidade nos tecidos periapicais, sobretudo quando em elevadas concentrações (PASHLEY et al., 1985; GERNHARDT et al., 2004; ZHU et al., 2013) propicia a redução nas propriedades mecânicas da dentina (ARI; ERDEMIR; BELLI, 2004) e, interfere negativamente na adesão de materiais restauradores à dentina (OZTURK; OZER, 2004; SANTOS et al., 2006; FARINA et al., 2011).

Como alternativa ao uso do NaOCl, a CHX vem sendo proposta como substância química auxiliar devido à atividade antimicrobiana (DAMETTO et al., 2005) e substância (DAMETTO et al., 2005; SOUZA et al., 2012). Contudo, ela não apresenta a importante habilidade de dissolução tecidual (NAENNI; THOMA; ZEHNDER, 2004; ZEHNDER, 2006; HAAPASALO et al., 2014). Em decorrência de nenhuma substância química auxiliar possuir todos requisitos desejáveis, é necessário a busca por novas substâncias que venham preencher tais pré-requisitos, para que assim possam ser utilizadas na terapia endodôntica

O GSE é uma substância que vem recentemente sendo estudada na odontologia, pois possui a capacidade de aumentar a resistência de união de materiais adesivos à dentina (AL-AMMAR et al., 2009), além de interferir positivamente no processo de remineralização da estrutura dental (XIE et al., 2008) e possuir relatos de atividade antimicrobiana em estudo prévios (SHRESTHA et al., 2012; GHONMODE et al., 2013).

REVISÃO DE LITERATURA

Os microorganismos e seus sub-produtos desempenham um importante papel na etiologia das patologias que acometem os tecidos periapicais (KAKEHASHI; STANLEY; FITZGERALD, 1965; GOMES et al., 2004). Bactérias remanescentes no terço apical são frequentemente associadas à falhas nos tratamentos endodônticos (NAIR et al., 1990; ROCAS et al., 2010; ARNOLD; RICUCCI; SIQUEIRA, 2013).

Em decorrência desses fatores o objetivo primordial da terapia endodôntica é realizar a desinfecção do sistema de canais radiculares (SUNDQVIST et al., 1998; PETERS, 2004). Para que haja a redução bacteriana é realizado o preparo químico mecânico dos canais radiculares utilizando instrumentos endodônticos associados à substâncias químicas auxiliares (ENDO et al., 2012; SIQUEIRA et al., 2013).

2.1 Enterococcus faecalis

E. faecalis são cocos gram positivos anaeróbicos facultativos (ROCAS; SIQUEIRA; SANTOS, 2004) e estão presentes em uma pequena porcentagem em canais radiculares não tratados (EVANS et al., 2002). Estes microorganismos desempenham importante papel na etiologia de lesões perirradiculares persistentes estando comumente associados aos insucessos endodônticos. Eles são capazes de sobreviver no canal radicular como único microorganismo (SUNDQVIST et al., 1998; STUART et al., 2006), sobreviver em ambientes com pH alcalino e altas concentrações salinas (STUART et al., 2006) sendo resistentes inclusive ao hidróxido de cálcio (LIN; MICKEL; CHOGLE, 2003).

Avaliando a prevalência de Enterococcus em canais radiculares, ROCAS; SIQUEIRA; SANTOS, (2004), realizaram um estudo em que foram coletadas amostras bacteriológicas de 80 dentes com indicações de intervenções ou reintervenções endodônticas. Estes dentes foram divididos em 4 grupos de acordo com as diferentes patologias que apresentavam: 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. Os 3 primeiros grupos foram detectados *E. faecalis* numa porcentagem respectivamente de: 33%, 10% e 5%. Contudo no grupo 4 foi detectada a presença do *E. faecalis* em 67% dos casos. Tais resultados permitiram os autores concluir que estes microorganismos estão mais presentes em infecções secundárias.

PECIULIENE et al., (2000), avaliaram 25 dentes que necessitavam de reintervenção endodôntica. Em 14 amostras foi detectado a presença de *E. faecalis*, sendo que em 5 dentes havia a presença de *E. faecalis* como único microorganismos no canal radicular. Os resultados comprovaram a presença de *E. faecalis* em 70% dos casos, permitindo os autores concluir que este patógeno está fortemente correlacionado ao insucesso da terapia endodôntica.

Ao analisar amostras microbiológicas de 60 dentes com lesões periapicais persistentes que foram submetidos a retratamentos endodônticos não cirúrgicos, PINHEIRO et al.,(2003) constatou a presença de 51 espécies de microorganismos. Na maioria dos casos havia a presença de 1 ou 2 espécies de bactérias, sendo que a espécie de bacteriana mais frequentemente encontrada foi o *E. faecalis* estando ele presente em 45% dos casos.

2.2 Sistema Reciprocante

O sistema reciprocante, relatado pela primeira vez na literatura em 2008, baseia-se em movimentos alternados no sentido anti-horário e horário para o avanço do instrumento e preparo do canal radicular com a utilização de apenas uma lima. Conseqüentemente, reduzindo a possibilidade de fratura de instrumentos, diminuindo o risco de contaminação cruzada por ser de uso único e possuir um menor custo quando comparado a técnicas de instrumentação rotatórias (YARED, G., 2008). Além de apresentar uma curva de aprendizagem menor em

relação às outras técnicas de preparo do canal radicular (BURKLEIN et al., 2012).

Os sistemas que utilizam essa abordagem incluem WaveOne (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça) e Reciproc (VDW, Munich, Germany), os quais embora se diferenciem essencialmente em sua seção transversal, assemelham-se, respectivamente, aos sistemas ProTaper e Mtwo (MACHADO et al., 2013).

A sequência clínica sugerida pelo fabricante do Reciproc, é a técnica de único instrumento, utilizando um dos três disponíveis: R25 (ponta de 25 mm e *taper* nos milímetros iniciais de 0,08); R40 (com ponta de 40 mm e *taper* nos milímetros iniciais de 0,06); R50 (ponta de 50mm *taper* 0,05 nos milímetros iniciais). O sistema WaveOne, diferencia-se pelos tamanhos das pontas: Pequeno (ponta de 21 mm *taper* 0,06), Primário (ponta de 25 mm e *taper* 0,08), Grande (ponta de 40 mm e *taper* 0,05) (PLOTINO et al., 2012).

2.2.1 Manutenção da anatomia

Com relação a capacidade dos instrumentos recíprocos manterem a anatomia originais dos canais radiculares, BERUTTI et al., (2012) compararam os preparos realizados em blocos de acrílicos pelos sistemas ProTaper e WaveOne quanto ao desvios da anatomia original após a utilização dos diferentes sistemas. Para tal comparação foram utilizados 30 blocos acrílicos que simularam canais radiculares, os quais foram divididos em dois grupos. Eram realizadas fotografias dos blocos

tomadas antes e após o preparo, sendo-as sobrepostas para avaliação da capacidade de manter a trajetória original dos canais simulados. Os resultados mostraram que o sistema WaveOne apresentou capacidade de confeccionar preparos mais centralizados, possuindo uma maior capacidade de manter a trajetória original dos canais radiculares quando comparado ao sistema ProTaper.

Outro estudo comparou as mudanças induzidas em raízes de molares inferiores após o preparo com a lima F2 do sistema ProTaper acionada em movimentos recíprocos e o preparo realizado empregando a seguinte sequência das limas do sistema ProTaper, em movimentos de rotação contínua: Sx, S1, S2, F1 e F2. Foram analisadas mudanças do volume dentinário, porcentagem de paredes preparadas e o grau de transporte do canal radicular. Ao analisarem volume dentinário não houve diferenças estatísticas, quanto à porcentagem do preparo também não houve diferenças. No entanto, no quesito de transporte do canal radicular o preparo realizado pelo método recíproco apresentou um maior índice de transporte do canal no terço coronal, mas em terços apicais e médios não houve diferenças entre as duas técnicas. Os autores concluíram que ambas técnicas possuíam preparos semelhantes em relação aos itens avaliados no estudo (PAQUE; ZEHNDER; DE-DEUS, 2011).

No estudo de BURKLEIN; BENTEN; SCHAFER, (2013), foi realizado a comparação da habilidade dos instrumentos Mtwo, Reciproc, F360 e One Shape no preparo dos canais radiculares de molares. Foram utilizados oitenta raízes mesiais de molares inferiores divididas em vinte raízes para cada tipo de instrumento. Todos os instrumentos foram

utilizados de acordo com as instruções do fabricante, sendo os instrumentos, Mtwo, F360 e One Shape utilizados em rotação contínua, porém os dois últimos realizam o preparo utilizando apenas uma única lima. O sistema Reciproc foi utilizado em movimentos recíprocos. Os autores avaliaram o tempo para a realização da instrumentação e a incidência de mudanças no comprimento de trabalho. Chegando a resultados que os possibilitaram concluir que não houveram diferenças na mudança de comprimento de trabalho entre os grupos. Em relação ao tempo de preparo, os sistemas One Shape e Reciproc realizaram os preparos mais rápidos que os demais.

Em canais em que instrumentos rotatórios são utilizados existe a possibilidade de ocorrer a formação de defeitos em dentina. Em decorrência desta possibilidade BURKLEIN; TSOTSIS; SCHAFER, (2013) compararam a incidência de defeitos em dentina após preparos com o uso de um único instrumento em movimento recíproco Reciproc e WaveOne e a realização de preparos com a utilização de toda sequência dos instrumentos rotatórios ProTaper e Mtwo. Realizaram análise nos terços coronal, médio e apical e independente da técnica utilizada houve formação de defeitos em dentina; porém, no terço apical o instrumento Reciproc teve um índice mais alto em comparação as demais técnicas.

2.2.2 Capacidade de remoção de debris

Quanto à capacidade de remoção de debris em istmos das raízes de molares inferiores, os sistemas Self Adjusting File, K3 e WaveOne

foram comparados. Nesta pesquisa foram utilizadas trinta raízes mesiais, divididas nos três grupos. Em relação a limpeza dos canais, os sistemas não apresentaram diferenças estatísticas entre si. Contudo, na análise de limpeza nas regiões de istmos, os sistemas K3 e SAF tiveram uma limpeza mais eficiente quando comparada ao WaveOne (DIETRICH; KIRKPATRICK; YACCINO, 2012).

Com o objetivo de comparar a capacidade de modelagem e a eficácia na limpeza de canais curvos, BURKLEIN et al., (2012) utilizaram instrumentos reciprocantes WaveOne e Reciproc e os rotatórios ProTaper e Mtwo. Foi realizado um estudo onde se avaliou 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. Os resultados demonstraram um decréscimo no tempo de preparo de aproximadamente de 60% quando empregada a técnica reciprocante. Reciproc e Mtwo produziram uma menor quantidade de resíduos no terço apical, nos demais terços não houve diferença estatística. Na quantidade de *smear layer* não houve diferenças entre os grupos. Portanto, a utilização de uma única lima não teve impacto na limpeza quando comparada com a sequência das técnicas do ProTaper e Mtwo. Na avaliação da limpeza dos canais, os instrumentos Reciproc e Mtwo proporcionam uma melhor limpeza do terço apical. Em seu estudo ALVES et al., (2012), avaliou a redução bacteriana pelos métodos de cultura bacteriana e qPCR, obtida em canais ovais após o emprego da técnica reciprocante e rotatória. Foram utilizados incisivos inferiores e segundos pré-molares inferiores com um único canal, totalizando uma amostra de trinta e quatro dentes, as quais

foram divididas em dois grupos: G1, Instrumentação com a lima Reciproc R40 e G2, BioRace instrumentação com as limas 25 *taper* 0.04 e 40 *taper* 0.04. A quantidade de redução bacteriana revelada pelos métodos de cultura e qPCR de ambos grupos foi de uma alta taxa de desinfecção. Os autores concluíram que o preparo com uma única lima em canais ovais foi comparável a técnica rotatória, desde que o tamanho do preparo apical, volume e o tempo de irrigação sejam semelhantes.

BURKLEIN; SCHAFER, (2012) em seu estudo realizaram uma avaliação com o intuito de comparar a quantidade de debris extruídos além do ápice de canais retos quando utilizado instrumentos Reciproc e WaveOne, em relação a sequência completa dos sistemas ProTaper e Mtwo. O volume e material extruído dos grupos em que se empregou movimentos recíprocos foi estatisticamente maior. Comparando-os, Reciproc teve uma maior quantidade de debris extruídos que o WaveOne.

Em relação a capacidade de desinfecção promovida pelos sistemas de lima única, SIQUEIRA et al., (2013) realizaram um estudo onde foram avaliados a redução bacteriana, área não instrumentada do canal radicular, volume aumentado após a instrumentação e a área aumentada após preparo utilizando os seguintes instrumentos: Self-Adjusting File, Reciproc e Twisted Files. Para a quantificação bacteriana, foram coletadas amostras dos canais radiculares antes do preparo e logo após utilizando o método de reação em cadeia da polimerase. Para a avaliação dos outros itens foram realizadas μ TC antes dos preparos e ao término. Essas imagens foram sobrepostas para a realização das mensurações. As três técnicas apresentaram alto índice de redução

bacteriana, nas avaliações pela μ TC as técnicas não apresentaram diferenças entre elas. Os preparos independentemente das técnicas utilizadas, apresentam capacidades similares de desinfecção e modelagem dos canais radiculares.

Com a mesma finalidade, MACHADO et al., (2013) compararam a redução bacteriana promovida por sistemas reciprocantes e rotatórios em raízes contaminadas por *E. faecalis*. Para tal estudo os autores utilizaram 60 raízes distais de molares superiores, e as dividiram em cinco grupos, cada um com doze amostras: G1, WaveOne Primary; G2, Reciproc R25; G3, ProTaper até o instrumento F2; G4, Mtwo até o instrumento 25 *taper* 0.06; e, G5, limas manuais até a de número 35. Para a mensuração da descontaminação foram coletadas amostras dos canais antes do preparo, imediatamente e após sete dias após ao término da instrumentação. Os resultados apontaram que a descontaminação obtida pelos instrumentos reciprocantes, rotatórios e manuais tiveram índices semelhantes imediatamente ao término e sete dias após a conclusão dos preparos.

FERRER-LUQUE et al., (2013), compararam a redução de *E. faecalis* após a realização de instrumentação com o sistema reciprocante e rotatório. Nesta pesquisa os autores utilizaram sessenta e seis raízes de pré-molares, as quais foram distribuídas em três grupos, subdivididos pela utilização de diferentes irrigantes, NaOCl e água destilada. G1, 24 raízes, 12 para o grupo NaOCl e 12 para o grupo da água destilada, sendo as preparadas com o instrumento Mtwo de ponta 40 *taper* 0.04; G2, 24 raízes, preparadas com o instrumento Twisted File de ponta 40 *taper* 0.04 subdividida as amostras igualmente ao anterior; e, G3, 24

raízes instrumentadas com a lima Reciproc R40 subdivididas idem aos grupos anteriores. A contaminação foi quantificada antes ao preparo, imediatamente ao término e sessenta dias após. Os índices de descontaminação apresentaram valores similares quando o irrigante utilizado foi a água destilada nos dois tempos analisados. No entanto, o índice de crescimento bacteriano do grupo em foi utilizado o instrumento Mtwo associado ao NaOCl foi significativamente menor em relação aos outros grupos.

KOCAK et al., (2013), compararam a quantidade de debris extruídos pelos preparos realizados com os instrumentos ProTaper, Revo-S, Self Adjusting File e Reciproc. O resultado indicou que o ProTaper teve a maior extrusão de debris e o Reciproc a menor, no entanto a análise estatística não apresentou diferença entre os sistemas.

Ao analisar a extrusão de *debris*, uma das maiores preocupações está relacionada com a dor pós operatória GAMBARINI et al., (2013), compararam a incidência de dores pós operatórias após a instrumentação com técnicas rotatória, reciprocante e híbrida. Foram selecionados noventa pacientes que apresentavam pré-molares e molares com necrose pulpar. Aleatoriamente eles foram divididos em três grupos. G1, preparos do canal utilizando Twisted Files em movimentos rotatórios; G2, WaveOne Primary em movimento reciprocante; e, G3, Twisted File Adaptive Sequence ora em movimentos reciprocantes, ora em rotação contínua. Três dias após a conclusão da endodontia era realizada uma avaliação da dor pós operatória, sendo classificada em escalas: nenhuma dor, dor leve, moderada e severa. Os resultados apresentaram um índice

de dor significativamente maior para o grupo em que foi utilizada a técnica recíproca.

2.2.3 Avaliação da resistência cíclica

Outra vantagem associada a instrumentação recíproca seria a propriedade de aumentar a resistência a fadiga cíclica. Para avaliação de tal suposição DE-DEUS et al., (2010) submeteram o instrumento F2 do sistema ProTaper a testes em canais metálicos. Foram utilizadas trinta limas F2, divididas em três grupos. G1, movimentos rotatórios em 250 rpm; G2, movimentos rotatórios em 400 rpm ambos grupos utilizando o motor X-Smart (Tulsa/Dentsply, Tulsa, OK, USA); e, G3, movimentos recíprocos em 400 rpm utilizando o motor ATR Tecnica (Pistoia, Tuscany, Italy). O tempo para que houvesse a fratura do instrumento foi anotado e o mesmo analisado sob MEV. Este tempo foi convertido em ciclos, conferindo os seguintes resultados, G1, fratura em média após 160 ciclos; G2, em média após 120 ciclos; e, G3, em média após 630 ciclos. Permitindo assim concluir que o movimento recíproco teve maior resistência a fratura cíclica em relação a rotação contínua.

Em outro estudo para avaliação da resistência cíclica dos instrumentos recíprocos, avaliou-se a resistência do instrumento WaveOne Primary e Reciproc R25 em canais simulados com angulação de 60° e raio de curvatura de 5mm. Eles eram acionados até ocorrer a fratura. Tempo e local da fratura eram anotados. O instrumento Reciproc teve um aumento médio no tempo para que ocorresse a fratura em

relação ao WaveOne, já na avaliação do local da fratura não houve diferença entre os dois grupos (PLOTINO et al., 2012)

CASTELLO-ESCRIVA et al., (2012) realizaram um estudo para comparar a resistência a fadiga cíclica dos instrumentos ProTaper, WaveOne e Twisted Files. Os pesquisadores confeccionaram quatro canais simulados com diferentes angulações e diâmetro de raio. Os instrumentos eram acionados até sua fratura. O tempo necessário para que houvesse a quebra era registrado. O instrumento WaveOne mostrou-se mais resistente em três dos quatro canais. Os autores concluem que ele apresentou uma maior resistência a fadiga cíclica que o sistema ProTaper e Twisted Files.

Ainda avaliando a resistência à fadiga, foi realizado um estudo para correlacionar a influência da flexibilidade e o uso do movimento recíprocante. Nesta pesquisa utilizou-se limas Reciproc R25 e Mtwo de ponta 25 *taper* 0.06. Os instrumentos eram submetidos aos testes estáticos e dinâmicos até a fratura do instrumento. Tais testes permitiram concluir que o instrumento Reciproc R25 precisou de um tempo maior até ocorrer sua fratura. Os autores concluíram que a lima Reciproc R25 apresenta uma maior flexibilidade em relação ao Mtwo (LOPES et al., 2013).

2.3 Alargamento Apical

Durante o preparo do canal radicular, o tamanho apical tem sido um fator importante no debridamento dos sistemas de canais radiculares (MICKEL et al., 2007). No entanto, a questão sobre o tamanho final do

preparo para o terço apical continua controversa (BAUGH; WALLACE, 2005).

O alargamento do terço apical proporciona uma maior redução do número de bactérias presentes no canal radicular (DALTON et al., 1998; SIQUEIRA et al., 1999; ROLLISON; BARNETT; STEVENS, 2002) e permite um maior fluxo da solução irrigadora (ROLLISON et al., 2002). Entretanto, estudos demonstram que não há diferença na redução bacteriana em canais com ou sem alargamento apical (BUCHANAN, 1994; YARED, G. M.; DAGHER, 1994; COLDERO et al., 2002).

YARED, G. M.; DAGHER, (1994), em seu estudo analisaram a influência do alargamento apical em tratamento de dentes com periodontite apical. Para tal, o autor utilizou de sessenta pacientes que apresentavam lesões endodônticas nos incisivos centrais, dividindo-os em dois grupos: G1, preparo apical até lima de 25#; e, G2, preparo apical até a lima 40#. Amostras eram coletadas em três tempos. Uma anterior ao preparo, outra logo após e a última uma semana após a utilização de Ca(OH)_2 como medicação intracanal. Os resultados não apresentaram diferença estatística entre os grupos, nem na segunda e terceira coleta. Os autores concluem que a instrumentação até lima 25 foi tão eficiente quanto a lima 40#.

SIQUEIRA et al., (1999) realizaram um estudo para comparar a redução bacteriana proporcionada por três tipos diferentes de técnicas de instrumentação. Neste trabalho foram utilizadas trinta e cinco raízes de pré-molares inferiores com um único canal. No G1, empregou a utilização de limas manuais Ni-Ti Flex, tendo como lima final a de 40#;

G2, utilizou limas manuais GT com lima final a lima de 20# e *taper* 0.12; e, G3, utilizou limas rotatórias Profile como lima final utilizou a de número 5 que possui diâmetro na ponta de aproximadamente 0,27 mm. No grupo G1 foi realizada a mensuração para quantificar a diminuição bacteriana após o preparo com a lima 30#, 35# e 40#, nos demais grupos somente na lima final de preparo. Não houve diferenças entre a redução bacteriana proporcionada pelo instrumento de tamanho 30 do G1 em relação aos outros grupos; entretanto, o preparo até a lima de 40# no G1, resultou em uma redução significativa quando comparado as outras técnicas e instrumentos.

Em seu trabalho ROLLISON et al., (2002), avaliaram a capacidade remoção de bactérias em canais infectados, realizando diversas técnicas de instrumentação e diferentes tamanhos de alargamento apical. Os autores concluíram que o aumento do alargamento apical proporciona uma maior redução bacteriana.

Conclusão semelhante obteve USMAN; BAUMGARTNER; MARSHALL, (2004), em seu estudo, o qual comparou a eficácia da limpeza dos três milímetros apicais em molares, preparados com instrumentos Profile GT 20# em sua ponta, e o instrumento Profile GT de ponta 40#. Resultados evidenciaram que o alargamento do terço apical aumentou a capacidade de limpeza destes canais.

Outro estudo avaliou a capacidade do sistema Profile GT associado a repetidas aplicações de NaOCl e EDTA na diminuição ou eliminação de bactérias presentes em canais radiculares. Os resultados indicaram que houve diminuição significativa no número de bactérias

nas amostras em que foram realizados preparos apicais mais amplos, quando relacionados a preparos apicais de menor diâmetro (MCGURKIN-SMITH et al., 2005).

De acordo com os trabalhos citados acima, FORNARI et al., (2010) avaliaram a influência do diâmetro apical na limpeza do terço apical de canais curvos preparados com instrumentos rotatórios. Os autores utilizaram quarenta raízes méso-vestibulares de molares superiores, dividindo-as em quatro grupos. G1, instrumento final de instrumentação com diâmetro na ponta de 30#; G2, instrumento final com ponta de diâmetro 35#; G3, instrumento final com ponta de 40#, e G4, instrumento com ponta de 45#. Em todos os grupos os instrumentos apresentavam *taper* 0.02. Após os preparos dos canais, as raízes foram submetidas a processamentos histológico. Os resultados relataram uma maior área não instrumentada nos grupos G1 e G2. Também evidenciou uma menor quantidade de débris nos canais nos grupos G3 e G4, demonstrando que a limpeza dos terços apicais pode ser influenciada pelo tamanho do preparo.

Por outro lado, COLDERO et al., (2002) concluíram em seu trabalho, que não é necessário a remoção de dentina no terço apical. Para a realização deste estudo os autores utilizaram trinta e oito raízes palatinas as quais foram divididas em três grupos: G1, dezesseis raízes foram preparadas com limas rotatórias Profile GT até o diâmetro de 35# *taper* 0.04 no comprimento de trabalho realizando o alargamento apical; G2, dezesseis raízes tiveram preparos até a lima 35# *taper* 0.04 no entanto um milímetro aquém do comprimento de trabalho não realizando o alargamento apical; e, G3, seis raízes irrigadas com NaOCl

que em mesma quantidade que os demais grupos. Não havendo diferença estatística entre os grupos 1 e 2.

Outro fator que influenciaria a determinação da quantidade do alargamento da região apical é a identificação da lima anatômica inicial (PECORA et al., 2005). VANNI et al., (2005), avaliaram a influência do preparo cervical na determinação do instrumento apical inicial em raízes méso-vestibulares de primeiros molares superiores. Após a realização de preparos cervicais os autores concluíram que o instrumento que melhor se adapta a região apical destes canais são os de tamanho equivalente a uma lima 30#. Também analisando a influência do preparo cervical para a determinação da lima inicial, CECCHIN et al., (2012) concluíram que o tipo de preparo cervical interfere na identificação da lima anatômica inicial.

2.4 Substâncias químicas auxiliares

2.4.1 Hipoclorito de Sódio

O NaOCl é a substância química auxiliar mais amplamente utilizada nos tratamentos endodônticos devido à sua atividade antimicrobiana e pela sua capacidade de dissolver matéria orgânica (ZEHNDER, 2006). Contudo, apresenta desvantagens, tais como: ser extremamente tóxica quando extravasada aos tecidos periapicais (BEHRENTS; SPEER; NOUJEIM, 2012), e ter influência negativa na adesão dos materiais restauradores à dentina (OZTURK; OZER, 2004; SANTOS et al., 2006; FARINA et al., 2011).

Analisando a eficácia de diferentes concentrações de NaOCl e de diferentes formas e concentrações de CHX para eliminação *E. faecalis in vitro*. Foi Utilizado NaOCl nas seguintes concentrações: 0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5,25%; a CHX nas formas líquida e gel nas concentrações: 0,2%, 1%, e 2%. Todas as concentrações foram analisadas nos seguintes tempos de contato com os microorganismos: 10, 20 e 30s; 1, 3 ,5 minutos e por 1 e 2 horas. Os resultados mostraram que todas as concentrações do NaOCl e CHX foram capazes de eliminar o *E. faecalis*, porém em diferentes tempos, sendo que NaOCl 5,25% e CHX 1 e 2% necessitaram um menor tempo para eliminação. Os autores relatam que o tempo para eliminação do *E. faecalis* é dependente do tipo de substância química auxiliar utilizada, de sua concentração e tempo de contato (GOMES et al., 2001).

BERBER et al., 2006 avaliaram a eficácia de diferentes concentrações de NaOCl na redução de *E. faecalis* presentes no canal radicular e em túbulos dentinários. Neste estudo foram utilizados 120 pré molares uniradiculares os quais foram contaminados com *E. faecalis*, sendo os divididos em 12 grupos. Utilizou-se NaOCl nas concentrações de 0,5%, 2,5% e 5,25 % e soro fisiológico como grupo controle. Para a realização dos preparos químicos mecânicos foram utilizadas 3 técnicas de instrumentação. Amostras eram colidas antes e após os preparos. Na comparação entres as técnicas, não houve diferença estatística entre os grupos. Ao analisar as concentrações de NaOCl também não houveram diferenças significativas na redução de UFCs. Porém, quando as raízes foram analisadas em seus terços, o grupo NaOCl 5,25% apresentou uma menor quantidade de UFCs nos terços apicais em comparação aos

demais grupos. Tais resultados permitiram aos autores concluir que NaOCl parece ser capaz de penetrar nos túbulos dentinários.

Comparando a redução bacteriana intracanal produzida por diferentes concentrações de NaOCl, foi realizado um estudo com 40 pré-molares, as que foram submetidas à contaminação com *E. faecalis*. Posteriormente foram divididos em 4 grupos. G1, NaOCl 1%; G2, NaOCl 2,5%; G3, NaOCl 5,25%; e, G4, soro fisiológico. Todos grupos foram instrumentados até a lima 40# e foi utilizado um volume total de solução química auxiliar de 7 mL. Antes e depois dos preparos químicos mecânicos foram realizadas mensurações para avaliar a descontaminação obtida pelos diferentes protocolos. Os resultados evidenciaram que todas concentrações foram efetivas na redução do número de *E. faecalis*, porém não houveram diferenças estatísticas entre as diferentes concentrações de NaOCl (SIQUEIRA et al., 2000).

Com objetivo de determinar a mínima concentração e tempo necessário para uma eficaz eliminação de *E. faecalis* em túbulos dentinários de dentes bovinos, RETAMOZO et al.,(2010) confeccionou 400 cilindros utilizando incisivos centrais, que foram divididos em 24 grupos, os quais diferenciavam-se no tempo de exposição ao NaOCl e na concentração. Os tempos foram de: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 minutos, e as concentrações em 1,3%, 2,5% e 5,25%. Após o estudo os autores concluíram que o NaOCl em concentração de 5% num período de 40 minutos foi o método mais eficiente promovendo uma total remoção de *E. Faecalis*. No mesmo tempo e nas concentrações 1,3% e 2,5% o NaOCl não se mostrou eficaz para remoção completa de *E. faecalis* dos túbulos dentinários.

Em seu estudo clínico, ROCAS; SIQUEIRA, (2011) comparou a eficiência antimicrobiana do NaOCl 2,5% e CHX 0,12% quando utilizadas como substâncias químicas auxiliares em dentes que apresentavam lesões periapicais. Cinquenta pacientes foram incluídos no estudo, divididos em 2 grupos de acordo com a substância utilizada. Amostras para mensuração da contaminação foram colhidas antes ao preparo químico mecânico e logo após a sua realização. Independente da solução houve uma redução significativa na contagem de microorganismos, não havendo diferenças estatísticas entre os 2 grupos.

BEUS et al., (2012) compararam os resultados de 2 protocolos de irrigação na descontaminação de canais radiculares. Pacientes que apresentavam molares com lesões periapicais foram incluídos no estudo. Em um grupo utilizou-se NaOCl a 1% como substância química auxiliar, já no outro grupo foi utilizado NaOCl a 1%, mais EDTA a 17% ativado por ultrassom, após foi realizado uma irrigação com CHX 2% também ativada com o ultrassom. Os resultados mostraram que no primeiro grupo houve uma redução bacteriana de 80% e no segundo de 84%, não apresentando diferenças estatísticas significantes entre os diferentes protocolos de irrigação.

2.4.2 Clorexidina

A clorexidina, embora não apresente a capacidade de dissolução de tecidos orgânicos (NAENNI; THOMA; ZEHNDER, 2004), vem sendo proposta como solução química auxiliar no tratamento dos canais radiculares por possuir atividade antimicrobiana (JEANSONNE;

WHITE, 1994; FERRAZ et al., 2001), substantividade (SOUZA et al., 2012), além de não influenciar negativamente na adesão dos materiais adesivos à dentina (KOMORI et al., 2009; SANTOS et al., 2006).

Com o objetivo de analisar as propriedades e aplicações da CHX na endodontia MOHAMMADI; ABBOTT, (2009) realizaram um revisão de literatura chegando as seguintes conclusões: CHX apresenta uma grande atividade antimicrobiana frente à bactérias Gram + e Gram -; é efetiva contra fungos, especialmente contra *Candida albicans*; apresenta menor eficácia contra biofilmes que o NaOCl; possui substatividade de até 12 semanas; dentina, hidroxiapatita, colágeno, bactérias mortas e exsudato inflamatório se presentes nos sistemas de canais radiculares podem reduzir ou inibir a atividade antimicrobiana da CHX; quando associada ao Ca(OH)₂ pode ter sua ação antimicrobiana aumentada; utilizado como medicação intracanal ou como irrigante pode reduzir a recontaminação por via coronária e não irá afetar adversamente na penetração bacteriana através do forame apical; associação da CHX e NaOCl resulta em mudança de cor da estrutura dental e forma uma precipitado que pode interferir no selamento da obturação do canal; pode aumentar a integridade da camada híbrida melhorando a estabilidade de união; possui uma biocompatibilidade aceitável; e, em raros casos pode causar reações alérgicas.

FERRAZ et al., 2001 testaram *in vitro* a atividade antimicrobiana e a capacidade de limpeza da CHX na forma gel como irrigante endodôntico. Para avaliação da descontaminação, contaminaram raízes com *E. faecalis*, submetendo-os a 3 protocolos de desinfecção: CHX 2% gel; CHX 2% líquida e NaOCl 5,25%. Após o preenchimento do canal

com a solução irrigadora, realizaram movimentos de limagem com uma lima 30# por 30s seguido de uma irrigação com 1 ml soro fisiológico, em seguida repetindo o movimento de limagem com lima 30#, sendo feito ao final uma irrigação com 5 mL de soro. Para avaliar a capacidade de limpeza, foram utilizados 25 dentes com único canal, sendo divididos em 5 grupos: G1- CHX 2% gel; G2- CHX 2% líquida; G3- NaOCl 5,25%; G4- água destilada; G5- água destilada associada a agitação ultrasônica de NaOCl por 5 minutos, seguido de mais um minuto de agitação utilizando EDTA. Na avaliação da descontaminação não houveram diferenças entre os grupos. Em relação a capacidade de limpeza, o grupo da CHX gel apresentou melhores resultados em comparação aos grupos do NaOCl e CHX líquida.

Com o objetivo de avaliar e comparar a eficácia de diferentes métodos de desinfecção química para cones de guta contaminados com *E. faecalis* e uma infecção polimicrobiana, NABESHIMA et al., (2011) utilizaram 86 cones, dividindo-os em 4 grupos. G1, NaOCl 1%; G2, CHX 2%; G3, iodo povidine 10%; e, G4, solução fisiológica 0,9%, sendo os cones imersos por um tempo de 1 e 10 minutos. Após o estudo os autores concluíram que a CHX 2% é um efetivo método química para desinfecção de cones de guta num tempo de 1 minutos, enquanto o NaOCl e iodo somente após 10 minutos possuem ação efetiva.

Com intuito de avaliar a efetividade antimicrobiana da CHX 2% e sua substantividade quando utilizada como solução de irrigadora em canais radiculares, Leonardo et al., (1999) utilizaram incisivos e molares que apresentavam lesões periapicais visíveis radiograficamente em tais dentes. Realizaram coletas antes ao preparo químico mecânico e ao

término da instrumentação. Logo após uma bolinha de algodão esterilizada foi colocada na entrada dos canais e os dentes foram selados provisoriamente com óxido de zinco e eugenol deixando-os sem nenhuma medicação intracanal por 48 horas. Após este período foi realizada a segunda coleta para analisar a contaminação nos diferentes períodos. A análise das amostras indicaram que em 10 casos havia a presença de *Streptococcus mutans* os quais foram 100% eliminados pela instrumentação. Em relação as bactérias anaeróbicas a segunda coleta mostrou que houve uma redução de 77,78%. Em conclusão os autores relatam que a CHX apresenta atividade antimicrobiana e substantividade pelo menos 48 horas.

ERCAN et al.,(2004), compararam a atividade antimicrobiana da CHX 2% em relação ao NaOCl 5,25%. Para este estudo comparativo os autores realizaram instrumentação em dentes unirradiculares que apresentavam lesão periapical, necrose pulpar ou ambos, com os diferentes irrigantes. Inicialmente foi realizada a coleta para mensurar a contaminação anterior a instrumentação, e uma posterior ao procedimento. Em seguida os dentes eram selados com material restaurador provisório e após 48 horas uma nova coleta era realizada. Os resultados das amostras mostraram que o grupo em que utilizou-se CHX teve um maior percentual de redução bacteriana nos dois tempos avaliados em relação ao grupo do NaOCl.

2.4.3 Extrato de Semente de Uva

O Extrato de Semente de Uva (GSE) é composto principalmente de Proantocinidinas (PAs) (WU, 2009), as quais são produtos naturais polifenólicos encontrados em frutas, legumes, nozes, sementes, flores e cascas (SARNI-MANCHADO; CHEYNIER; MOUTOUNET, 1999) e são formadas por subunidades de flavan-3-ol unidas principalmente por ligações C4-C8 ou C(6) (CASTELLAN , 2010)

As PAs apresentam a característica de indução de ligações cruzadas (CASTELLAN et al., 2010), resultando no aumento das propriedades mecânicas do substrato dentinário desmineralizado (AL-AMMAR; DRUMMOND; BEDRAN-RUSSO, 2009; BEDRAN-RUSSO et al., 2009) e aumentando também a resistência de união de materiais adesivos à dentina (AL-AMMAR et al., 2009). Além disso, interferem positivamente no processo de remineralização, inibindo a desmineralização e/ou promovendo a remineralização em lesões cariosas (XIE; BEDRAN-RUSSO; WU, 2008).

Além disso, alguns estudos realizados fora da área odontológica mostraram que o GSE apresenta boa atividade antimicrobiana. Em seu artigo SHRESTHA et al., (2012) investigou o efeito antimicrobiano do GSE sobre a microflora perimplantar em implantes crânio faciais. A ação antimicrobiana do extrato foi testado frente ao seguintes patógenos: *Stapylococcus aureus*, *Escheria coli*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumonia* e *Candida parapsilosis*. Os resultados mostraram um efeito inibitório moderado frente *Stapylococcus aureus*, no entanto o extrato mostrou-se ineficaz ou com efeito mínimo sobre os outros microorganismos.

Em um outro estudo AL-HABIB et al., (2010) investigaram a atividade antimicrobiana do GSE frente ao *Staphylococcus aureus* resistente a metilina. O GSE apresentou capacidade inibir o crescimento em todas as amostras, sendo que quando utilizado em uma concentração de 3 mg/ml foi capaz de promover uma inibição total do *S. aureus*.

Avaliando a atividade antimicrobiana do GSE em diferentes concentrações: 1%, 2,5%, 5% e 10% BAYDAR et al. (2006), testaram-nas frente aos seguintes patógenos: *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*. Os resultados apontaram que em todas as concentrações, o GSE mostrou-se eficaz sobre as bactérias testadas.

PROPOSIÇÃO

O presente estudo tem a intenção de avaliar a capacidade de descontaminação de canais radiculares utilizando diferentes técnicas de instrumentação e uma substância química auxiliar experimental:

1. Comparar a redução microbiana promovida pelo uso da técnica de instrumentação reciprocante com uso da lima única Reciproc R25, e a associação da desta lima com instrumento rotatório Mtwo 40 *taper* 0.4
2. Investigar o potencial antimicrobiano do GSE frente ao *E. faecalis*, quando utilizado como substância química auxiliar no tratamento endodôntico.

CAPÍTULO I

Comparação da Redução Microbiana entre Técnicas de Instrumentação
com Diferentes Diâmetros Apicais

Fernando Soveral D'Aviz, DDS, Matheus Albino Souza, PhD,
Doglas Cecchin, PhD

From the *Department of Restorative Dentistry, Dental School of
Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brazil.

Address requests for reprints to Doglas Cecchin, Universidade de
Passo Fundo, Campus I, Faculdade de Odontologia, BR 285, Km 171,
Bairro São José, Caixa Postal 611, 99052-900, Passo Fundo, Rio Grande
do Sul, Brazil (Tel.: +55 54 3316 8402; Fax.: +55 54 3316 8403); e-mail
address: dgsceccchin@yahoo.com.br

Resumo

Introdução: O objetivo deste estudo foi comparar a redução bacteriana obtida por preparos químicos mecânicos realizados com instrumentos recíprocante Reciproc R25 (VDW GMBH, Munique, Alemanha) e Reciproc R25 associado a lima rotatória Mtwo 40.04 R25 (VDW GMBH). **Métodos:** Foram utilizadas 50 raízes mesio-vestibulares de molares superiores contaminadas com *Enterococcus faecalis* pelo período de 30 dias. As amostras foram divididas em 4 grupos: G1 (controle negativo), (n = 5) raízes esterilizadas que não sofreram contaminação; G2 (controle positivo), (n = 5) raízes contaminadas que não sofreram nenhum procedimento de descontaminação; G3, (n = 20) preparo com Reciproc R25; G4, (n = 20) preparo com Reciproc R25 associado ao instrumento Mtwo 40.04. Como substância química auxiliar foi utilizado soro fisiológico. Testes microbiológicos (contagem de unidades de formadoras de colônias [UFCs]), foram realizados para quantificar a descontaminação obtida pelos protocolos propostos. Os dados foram submetidos a análise de variância (Anova). **Resultados:** Na comparação entre os preparos realizados com os instrumentos R25 e R25 associado ao instrumento Mtwo 40.04 não houve diferença estatística significativa na redução bacteriana. **Conclusão:** A adição do instrumento Mtwo 40.04 após o preparo de canais com o instrumento R25 não melhora sua capacidade de descontaminação.

Palavras Chaves: Diâmetro apical, *Enterococcus faecalis*, recíprocante, redução bacteriana, alargamento apical

Introdução

O tratamento endodôntico tem como objetivo principal a redução e eliminação de microorganismos e seus sub-produtos, tendo em vista que estes estão intimamente ligados à formação e manutenção das patologias que acometem os tecidos pulpare e periapicais (1, 2). No entanto, bactérias remanescentes no terço apical são frequentemente associadas a falhas nos tratamentos endodônticos (3-5). Dentre elas, destaca-se o *Enterococcus faecalis*, frequentemente relacionado a insucesso no tratamento endodôntico. Isto se deve a sua capacidade de sobreviver em ambientes com pH alcalino e em altas concentrações salinas (6), e sua resistência ao hidróxido de cálcio (7).

Para o preparo químico mecânico dos canais radiculares utiliza-se instrumentos endodônticos associados à substâncias químicas auxiliares (8,9). Embora a técnica de instrumentação manual ainda seja bastante utilizada, a aplicação de preparos mecanizados tem recebido uma crescente utilização na modelagem dos canais radiculares, incluindo instrumentação rotatória e reciprocante (10). Esta última, em que utiliza-se movimentos reciprocantes, está baseada na utilização de uma única lima para realização do preparo do canal radicular (11). Para raízes méso-vestibulares de molares superiores é indicado a utilização do instrumento R25 o qual possui 0,25 mm em sua ponta (5). Porém, Vanni et al (13) em seu estudo demonstrou que raízes méso-vestibulares de molares superiores apresentam diâmetros anatômicos de 0,30 mm. Desse modo, o predicação de um alargamento do terço apical de 3-4 instrumentos acima do diâmetro anatômico para uma correta limpeza, modelagem e remoção de 100-200 micrômetros de dentina (14) não

estariam sendo alcançados por esta técnica com o instrumento R25. Desse modo, o tamanho final do preparo para o terço apical continua controversa e precisa ser mais estudado (15).

A associação da técnica recíprocante e rotatória confeccionando um preparo do canal radicular com um maior diâmetro poderia ter uma redução bacteriana superior em comparação com a técnica recíprocante isolada. Portanto, o objetivo deste estudo foi comparar a redução bacteriana obtida por preparos químicos mecânicos realizados com instrumentos Reciproc R25 e Reciproc R25 associado a lima rotatória Mtwo 40.04. Hipótese em estudo: preparos realizados com a associação da técnica recíprocante com rotatória tem um maior índice de descontaminação em relação ao sistema recíprocante utilizado de forma isolada.

Materiais e Métodos

Preparo das raízes

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade de Passo Fundo, com parecer de aprovação de número 570.397. Foram obtidas cinquenta raízes mesio-vestibulares de molares superiores com diâmetro apical compatível com uma lima #10 (Dentsply Malliefer, Ballaigues, Suíça). Todos os espécimes foram instrumentados com limas # 10 e 15 calibradas 1mm aquém do comprimento de trabalho, o qual foi estabelecido pelo método visual. Em seguida na superfície externa das raízes foi aplicado cianoacrilato (Loctite, Itapeva, São Paulo, Brasil) e o ápice radicular selado com resina composta (3M ESPE, St. Paul, MN, USA). Concluída esta etapa, 50 microtubos (Odeme, Joaçaba, Santa Catarina, Brasil) foram preenchidos com sílica laboratorial Zetalabor (Zhermack Spa, Badia

Polenesia, Rivogo, Itália), sendo as raízes acomodadas com sua porção cervical para cima na silicona. Todas as amostras foram esterilizadas em autoclave (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) por um período de 30 minutos à 120 °C. Ao término da esterilização foram colocadas em um estante para microtubos para iniciar a contaminação.

Preparação das Bactérias e Contaminação

A preparação do caldo contendo *E. faecalis* e a contaminação das raízes foram realizadas de acordo com Almeida et al., (16). Para este experimento utilizou-se *E. faecalis* (American Type Collection 19433), o qual fora obtido e preparado no laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo. As bactérias foram cultivadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) por 24 horas à 37 °C em incubadoras microbiológicas.

Das cinquenta amostras quarenta e cinco raízes foram contaminadas com 100 µL da cultura de *E. faecalis*. O canal radicular foi preenchido com a suspensão de *E. faecalis* sendo este procedimento repetido à cada 48 horas para renovação do meio durante 30 dias. Todos esses procedimentos foram realizados sob condições assépticas dentro da câmara de fluxo laminar. Ao término de cada semana de contaminação foram realizados testes de coloração de Gram e culturas em ágar sangue seguido do teste da catalase para verificar a ausência de outros microrganismos além de *E. faecalis*.

Divisão dos Grupos

As 50 amostras foram aleatoriamente divididas em 4 grupos da seguinte forma:

Grupo 1: controle negativo (n=5); raízes esterilizadas que não foram submetidas a nenhum protocolo de desinfecção,

Grupo 2: controle positivo (n=5); raízes contaminadas que não sofreram nenhum procedimento para desinfecção,

Grupo 3: Reciproc R25 (VDW GMBH, Munique) (n=20); foi realizado o preparo do canal com o instrumento Reciproc R25 (VDW GMBH, Munique) acionado em movimento recíprocante por um motor elétrico Reciproc Silver (VDW GMBH) 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. Após três movimentos de bicada, o instrumento era removido e limpo e o canal irrigado. Este protocolo foi repetido até que o comprimento de trabalho fosse alcançado pelo instrumento R25. Como substância química auxiliar utilizou-se 2mL de soro fisiológico após cada 3 movimentos de bicada. O volume final de soro fisiológico totalizou 10mL. 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 após 1 minuto realizou-se irrigação final com 1mL de soro fisiológico.

Grupo 4: R25 + Mtwo 40.04 (VDW GMBH) (n=20); o preparo dos canais com R25 foi realizado de forma idêntica ao grupo anterior. No entanto, adicionou-se ao preparo a lima rotatória Mtwo 40.04 em movimentos rotatórios com torque e velocidade pré-definidas pelo fabricante. O procedimento de irrigação foi semelhante ao grupo anterior.

Análise Microbiológica

Antes da realização do preparo química mecânico, o canal radicular foi preenchido com solução salina estéril e esta solução agitada com uma lima #15 (Dentply Malliefer) por 30s promovendo o contato da solução com as paredes do canal radicular. Em seguida um cone de papel absorvente estéril #15 (Tanari, Manacapuru, Amazonas, Brasil) foi inserido e agitado contra as paredes do canal pelo período de 30s, sendo transferido para um microtubo (Odeme, Joaçaba, Santa Catarina, Brasil) contendo 1000 mL de solução salina estéril numa concentração de 0,9%. Esta solução foi homogeneizada e realizada diluições seriadas até 10^{-2} . Uma quantia de 75 μ L da solução e suas diluições foram utilizadas para a semeadura. Realizou-se a técnica da Gota, onde 5 gotas de 15 μ L de cada concentração eram colocadas em placas de Petry contendo PCA e incubadas por 48 horas. Após o período de incubação, foi realizado a contagem de UFCs para quantificar a contaminação inicial. Para a mensuração da eficácia dos protocolos de descontaminação foram realizados os mesmos procedimentos, com uma única alteração, ao invés do cone #15 era utilizado o cone #25 no grupo 3 e cone #40 no grupo 4.

A contagem foi realizada 3 vezes em cada placa de Petry por um mesmo observador previamente calibrado. Um segundo observador realizava o mesmo procedimento para confirmar a contagem de UFCs.

Análise Estatística

A contagem de UFCs foi transformada em Log_{10} para normalização dos dados e realização da análise estatística. Foi utilizado o teste de Anova para a comparação entre os grupos e para isto usou-se o software SPSS ver 15.0 (SPSS, Chicago, IL, USA)

Resultados

O grupo 1 demonstrou que não houve crescimento bacteriano, comprovando a esterilidade das raízes, e o grupo 2 apresentou contaminação. Na comparação entre os preparos realizados com os instrumentos R25 e R25 associado ao Mtwo 40.04 não houveram diferenças estatísticas significantes ($P < 0.05$) na redução bacteriana (Tabela 1).

Tabela 1. Número de UFC/mL (média \pm desvios-padrão) antes e após o preparo com diferentes técnicas

Grupos	N	Antes da instrumentação	Após a instrumentação
R25	20	$3,9 \times 10^4 \pm 3,3 \times 10^4$	$6,6 \times 10^3 \pm 6 \times 10^3$
R25+Mtwo 40.04	20	$3,7 \times 10^4 \pm 2,7 \times 10^4$	$4,1 \times 10^3 \pm 2,3 \times 10^3$

Discussão

Neste estudo utilizou-se molares superiores devido sua grande variabilidade anatômica (17), e optou-se pela raiz méso-vestibular por sua curvatura, a qual é um grande desafio para o endodontista, por sua anatomia complexa pode levar o clínico a realizar preparos com diâmetro apicais mais conservadores (14). A substância química auxiliar escolhida foi soro fisiológico para que apenas a capacidade mecânica de desinfecção fosse testada (10, 18, 19).

Os sistemas recíprocos tem sido utilizados para a preparação dos canais radiculares devido sua facilidade de uso, por realizar preparos mais rápidos em relação aos sistemas de rotação contínua e por apresentarem uma curva de aprendizagem menor quando comparada as

técnicas que utilizam instrumentos rotatórios (20). Neste estudo utilizou-se o instrumento Reciproc R25 que apresenta em seu D0 0,25 mm com um conicidade 0,08 mm em seus 3 milímetros iniciais, com isto seu D3 tem um diâmetro de 0,49 (12). Para a etapa de alargamento do terço apical no Grupo 4 utilizou-se o instrumento Mtwo 40.04 por apresentar um grande poder de corte e flexibilidade (21). A instrumentação utilizando a técnica de único instrumento, obteve uma redução bacteriana sem diferenças estatísticas em relação à técnica híbrida onde realizou-se o alargamento apical adicionando o instrumento Mtwo 40.04. Tais dados permitem que a hipótese inicial seja rejeitada.

Os resultados encontrados em nosso estudo vão de encontro ao trabalho publicado por Yared e Daugher (22), o qual mostrou que a instrumentação manual até a lima #40 não obteve uma maior capacidade de redução bacteriana em relação a instrumentação com a lima #25. Contudo, diferentes estudos demonstram resultados discordantes aos desta pesquisa, correlacionando uma maior capacidade de redução microbiana com diâmetros apicais maiores (19, 23-27)). Toda via uma comparação entre os estudos torna-se difícil devido às diferentes metodologias adotadas.

Buchanan (28) baseado em suas observações clínicas defende o mínimo preparo da região apical, evitando possíveis desvios do trajeto original prevenindo dessa forma iatrogenias oriundas de preparos com diâmetros apicais maiores. Coldero et al (29), em seu estudo comparou preparos com e sem alargamento apical, relatando que não houve diferença na redução bacteriana entre os dois grupos. Outros estudos que comprovam a eficiência de preparos sem alargamento são estudos longitudinais, os quais avaliaram a taxa de sucesso de tratamentos

endodônticos com diferentes alargamentos apicais, não havendo diferenças no índice de sucesso (30-32),

Com as limitações encontradas em nosso estudo podemos concluir que não houveram diferenças entre preparos realizados somente com o instrumento recíprocante R25 e a técnica onde houve associação da lima R25 ao instrumento rotatório Mtwo 40.04. No entanto, outros estudos devem ser realizados tais como: capacidade de limpeza de istmos de ambas técnicas, comparação com técnicas que utilizam mais instrumentos para o preparo do canal.

Referências

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulps in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;20:340-9.
2. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, *et al.* Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85:86-93.
3. Nair PN, Sjogren U, Krey G, *et al.* Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 1990;16:580-8.
4. Rocas IN, Alves FR, Santos AL, *et al.* Apical root canal microbiota as determined by reverse-capture checkerboard analysis of cryogenically ground root samples from teeth with apical periodontitis. *J Endod* 2010;36:1617-21.
5. Arnold M, Ricucci D, Siqueira JF, Jr. Infection in a complex network of apical ramifications as the cause of persistent apical periodontitis: a case report. *J Endod* 2013;39:1179-84.
6. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, *et al.* Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod* 2006;32:93-8.
7. Lin YH, Mickel AK, Chogle S. Effectiveness of selected materials against Enterococcus faecalis: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on Enterococcus faecalis. *J Endod* 2003;29:565-6.
8. Siqueira JF, Jr., Alves FR, Versiani MA, *et al.* Correlative bacteriologic and micro-computed tomographic analysis of mandibular molar mesial canals prepared by self-adjusting file, reciproc, and twisted file systems. *J Endod* 2013;39:1044-50.

9. Endo MS, Martinho FC, Zaia AA, *et al.* Quantification of cultivable bacteria and endotoxin in post-treatment apical periodontitis before and after chemo-mechanical preparation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:2575-83.
10. Machado ME, Nabeshima CK, Leonardo MF, *et al.* Influence of reciprocating single-file and rotary instrumentation on bacterial reduction on infected root canals. *Int Endod J* 2013;46:1083-7.
11. Yared G. Canal preparation using only one Ni-Ti rotary instrument: preliminary observations. *Int Endod J* 2008;41:339-44.
12. Plotino G, Grande NM, Testarelli L, *et al.* Cyclic fatigue of Reciproc and WaveOne reciprocating instruments. *Int Endod J* 2012;45:614-8.
13. Vanni JR, Santos R, Limongi O, *et al.* Influence of cervical preflaring on determination of apical file size in maxillary molars: SEM analysis. *Braz Dent J* 2005;16:181-6.
14. Pécora JD, Capelli A. Shock of paradigms on the instrumentation of curved root canals. *Braz Dent J* 2006;17:3-5.
15. Baugh D, Wallace J. The role of apical instrumentation in root canal treatment: a review of the literature. *J Endod* 2005;31:333-40.
16. de Almeida AP, Souza MA, Miyagaki DC, *et al.* 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* 2014;40:1953-7.
17. Gani O, Visvisian C. Apical canal diameter in the first upper molar at various ages. *J Endod* 1999;25:689-91.
18. Fornari VJ, Silva-Sousa YT, Vanni JR, *et al.* Histological evaluation of the effectiveness of increased apical enlargement for cleaning the apical third of curved canals. *Int Endod J* 2010;43:988-94.

19. Siqueira JF, Jr., Lima KC, Magalhaes FA, *et al.* Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod* 1999;25:332-5.
20. Burklein S, Benten S, Schafer E. Shaping ability of different single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J* 2013;46:590-7.
21. Schäfer E, Erler M, Dammaschke T. Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments. Part 1. Shaping ability in simulated curved canals. *International Endodontic Journal* 2006;39:196-202.
22. Yared GM, Dagher FE. Influence of apical enlargement on bacterial infection during treatment of apical periodontitis. *J Endod* 1994;20:535-7.
23. Orstavik D, Kerekes K, Molven O. Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxide dressing on bacterial infection during treatment of apical periodontitis: a pilot study. *Int Endod J* 1991;24:1-7.
24. Dalton BC, Orstavik D, Phillips C, *et al.* Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. *J Endod* 1998;24:763-7.
25. Sjogren U, Figdor D, Spangberg L, *et al.* The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J* 1991;24:119-25.
26. Rollison S, Barnett F, Stevens RH. Efficacy of bacterial removal from instrumented root canals in vitro related to instrumentation technique and size. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;94:366-71.
27. Card SJ, Sigurdsson A, Orstavik D, *et al.* The effectiveness of increased apical enlargement in reducing intracanal bacteria. *J Endod* 2002;28:779-83.
28. Buchanan LS. The art of endodontics: cleaning and shaping the root canal system. The apical preparation. Part IV of a four-part series on cleaning and shaping root canals. *Dent Today* 1994;13:50, 2.

29. Coldero LG, McHugh S, MacKenzie D, *et al.* Reduction in intracanal bacteria during root canal preparation with and without apical enlargement. *Int Endod J* 2002;35:437-46.

30. Hoskinson SE, Ng YL, Hoskinson AE, *et al.* A retrospective comparison of outcome of root canal treatment using two different protocols. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;93:705-15.

31. Kerekes K, Tronstad L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. *J Endod* 1979;5:83-90.

32. Friedman S, Abitbol S, Lawrence HP. Treatment outcome in endodontics: the Toronto Study. Phase 1: initial treatment. *J Endod* 2003;29:787-93.

CAPÍTULO II

Avaliação da capacidade antimicrobiana de diferentes substâncias
frente ao *Enterococcus faecalis*, estudo in vitro

Fernando Soveral D'Aviz, DDS, Matheus Albino Souza, PhD,
Doglas Cecchin, PhD

From the Department of Restorative Dentistry, Dental School of
Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brazil.

Address requests for reprints to Doglas Cecchin, Universidade de
Passo Fundo, Campus I, Faculdade de Odontologia, BR 285, Km 171,
Bairro São José, Caixa Postal 611, 99052-900, Passo Fundo, Rio Grande
do Sul, Brazil (Tel.: +55 54 3316 8402; Fax.: +55 54 3316 8403); e-mail
address: dgscecchin@yahoo.com.br

Resumo

Introdução: O objetivo deste estudo foi comparar *in vitro* a capacidade antimicrobiana do Hipoclorito de Sódio 5,25% (NaOCl), Clorexidina Gel 2% (CHX) e Extrato de Semente de Uva (GSE) na forma de líquida e gel 6,5% frente ao *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). **Métodos:** Utilizou-se 50 raízes disto-vestibulares de molares superiores extraídos, as quais foram contaminadas com *E. faecalis*. As amostras foram divididas em 6 grupos: G1, (n=5) raízes contaminadas que não sofreram nenhum procedimento mecânico (controle negativo); G2, (n=5) como substância química auxiliar foi utilizada soro fisiológico (controle positivo); G3, (n=10) NaOCl 5,25% + EDTA 17%; G4, (n=10) Clorexidina Gel 2% + EDTA 17%; G5, (n=10) extrato de semente de uva à 6,5% (GSE) + EDTA 17%; G6, (n=10) GSE à 6,5% em gel + EDTA 17%. Testes microbiológicos (contagem de unidades de formadoras de colônias [UFCs]) foram realizados para quantificar a descontaminação obtida pelos diferentes protocolos. Os dados foram submetidos à análise de variância (Anova) e teste de Tukey. **Resultados:** O grupo preparado com NaOCl obteve maior descontaminação sendo estatisticamente significativa em relação ao demais grupos, seguido da CHX. Os grupos controle e GSE não tiveram diferenças estatisticamente significante entre si. **Conclusão:** O GSE na concentração de 6,5 % não mostrou-se eficaz contra o *E. faecalis*, e o NaOCl apresentou os melhores resultados frente ao *E. faecalis*.

Palavras Chaves: Hipoclorito de sódio, clorexidina, extrato de semente de uva, *Enterococcus faecalis*, reciprocante,

Introdução

A associação entre instrumentos endodônticos e substâncias químicas auxiliares constituem o principal meio para eliminação/redução de microorganismos presentes nos sistemas de canais radiculares durante o tratamento endodôntico (1). Sendo estas bactérias a principal etiologia das patologias que acometem os tecidos pulpare e periapicais (2). Estudos prévios demonstraram que o uso exclusivo de instrumentos não proporcionam uma limpeza adequada dos canais radiculares (3), sendo necessário a utilização de soluções irrigadoras com potencial antimicrobiano durante a fase de instrumentação (4).

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é a substância química auxiliar mais utilizada durante o preparo químico mecânico por apresentar propriedades antimicrobianas, ser lubrificante e possuir capacidade de dissolução de matéria orgânica (5). No entanto possui características indesejáveis tais como: em casos de extravasamento pelo forame apical ser irritante aos tecidos principalmente em altas concentrações (6) reduz as propriedades mecânicas da dentina (7), e interfere negativamente na adesão de materiais restauradores à dentina (8).

Em decorrência destes efeitos indesejáveis a digluconato de clorexidina (CHX) vem sendo proposta substância química auxiliar ao tratamento endodôntico principalmente por apresentar atividade antimicrobiana (9), substantividade (10), não interferir na resistência de união de materiais adesivos à dentina (11) e ter baixa citotoxicidade (12).

O GSE é uma substância que vem recentemente sendo estudada na odontologia, pois possui a capacidade de aumentar resistência de união de materiais adesivos à dentina (13), além de interferir

positivamente no processo de remineralização da estrutura dental (14) e possuir relatos de atividade antimicrobiana em estudo prévios (15, 16).

Por isso, o objetivo deste estudo foi comparar a atividade antimicrobiana do NaOCl, CHX e GSE frente ao *E. faecalis*. A hipótese em estudo: as substâncias testadas apresentam a mesma capacidade de redução de *E. faecalis* dos canais radiculares.

Materiais e Métodos

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade de Passo Fundo, com parecer de aprovação de número 570.397. Foram obtidas cinquenta raízes disto-vestibulares de molares superiores com diâmetro apical compatível com uma lima #10 (Dentsply Malliefer, Ballaigues, Suíça). Todos os espécimes foram instrumentados com limas # 10 e 15 calibradas 1mm aquém do comprimento de trabalho, o qual foi estabelecido pelo método visual. Em seguida na superfície externa das raízes foi aplicado cianoacrilato (Loctite, Itapeva, São Paulo, Brasil) e o ápice radicular selado com resina composta (3M ESPE; St. Paul, MN, USA). Concluída esta etapa, 50 microtubos (Odeme, Joaçaba, Santa Catarina, Brasil) foram preenchidos com silicona laboratorial Zetalabor (Zhermack Spa, Badia Polenesia, Rivogo, Itália), sendo as raízes acomodadas com sua porção cervical para cima na silicona. Todas as amostras foram esterilizadas em autoclave (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) por um período de 30 minutos à 120 °C. Ao término da esterilização foram colocadas em uma estante para microtubos para iniciar a contaminação.

Preparação das Bactérias e Contaminação

A preparação do caldo contendo *E. faecalis* e a contaminação das raízes foram realizadas de acordo com Almeida et al., (17). Para este experimento utilizou-se *E. faecalis* (American Type Collection 19433), o qual fora obtido e preparado no laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo. As bactérias foram cultivadas em ágar de Brain Heart Infusion (BHI) por 24 horas à 37 °C em incubadoras microbiológicas.

Quarenta e cinco raízes foram contaminadas com 100 µL da cultura de *E. faecalis*. O canal radicular foi preenchido com a suspensão de *E. faecalis* sendo este procedimento repetido à cada 48 horas para renovação do meio durante 30 dias. Todos esses procedimentos foram realizados sob condições assépticas dentro da câmara de fluxo laminar. Ao término de cada semana de contaminação foram realizados testes de coloração de Gram e culturas em ágar sangue seguido do teste da catalase para verificar a ausência de outros microrganismos além de *E. faecalis*.

Divisão dos Grupos

As 50 amostras foram divididas aleatoriamente em 6 grupos da seguinte forma:

G1- (n=5) raízes contaminadas que também não sofreram nenhum procedimento para desinfecção (controle positivo);

G2- (n=5) Substância química auxiliar utilizou-se 2mL de soro fisiológico (Basso, Caxias do Sul, RS, Brasil).

G3- (n=10) Substância química auxiliar hipoclorito de sódio 5,25% (Natupharma, Passo Fundo, RS, Brasil).

G4- (n=10) Clorexidina gel 2% (Natupharma, Passo Fundo, Rs, Brasil), e como substância química auxiliar o soro fisiológico.

G5- (n=10) Substância química auxiliar Extrato de Semente Uva 6,5% (Mega-Natural, Madera, CA, USA).

G6- (n=10) Extrato de Semente de Uva gel 6,5% (Mega-Natural) e como substância química auxiliar o soro fisiológico como solução irrigadora.

Em todos os grupos os canais foram preparados com o instrumento Reciproc R25 R25(VDW GMBH, Munique, Alemanha), acionado em movimento recíprocante, promovido por um motor elétrico de torque limitado Reciproc Silver (VDW GMBH, Munique, Alemanha) usando os ajustes predefinidos. O instrumento foi deslocado em direção apical em pequenos movimentos de bicada, com amplitude de cerca de 3 mm, até que houvesse resistência. Após três movimentos de bicada, o instrumento era removido e limpo, e o canal irrigado, sendo este protocolo repetido até que o comprimento de trabalho fosse alcançado pelo instrumento R25. O volume final de substância química auxiliar totalizou 10mL, após era feita irrigação com 1 mL de EDTA 17% (Iodontosul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) complementando-se com irrigação final com 1mL de soro fisiológico para a remoção de *smear layer*. Nos grupos 4 e 6 o canal radicular foi preenchido com a respectiva substância química auxiliar em forma de gel antes da utilização do instrumento. Posteriormente, utilizou-se soro fisiológico num volume total de 10mL.

Análise Microbiológica

Antes da realização do preparo química mecânico, o canal radicular foi preenchido com solução salina estéril, e esta solução agitada com uma lima #15(Denstply) por 30s promovendo o contato da solução com as paredes do canal radicular. Em seguida um cone de papel absorvente estéril #15 (Tanari, Manacapuru, Amazonas, Brasil) foi inserido e agitado contra as paredes do canal pelo período de 30s, sendo transferido para um microtubo (Odeme; Joaçaba, Santa Catarina, Brasil) contendo 1000 mL de solução salina estéril numa concentração de 0,9%. Esta solução era homogeneizada, e realizada diluições seriadas até 10^{-2} . Uma quantia de 75 μ L da solução e suas diluições foram utilizadas para a semeadura. Realizou-se a técnica da Gota, onde 5 gotas de 15 μ L de cada concentração eram colocadas em placas de Petry contendo PCA e incubadas por 48 horas. Após o período de incubação, foi realizado a contagem de UFCs para quantificar a contaminação inicial. Para a mensuração da eficácia dos protocolos de descontaminação, eram realizados os mesmos procedimentos, com uma única alteração, ao invés do cone #15 era utilizado o cone #25.

A contagem era realizada 3 vezes em cada placa de Petry por um mesmo observador previamente calibrado, e um segundo observador realizava o mesmo procedimento para confirmar a contagem de UFCs.

Análise Estatística

A contagem de UFCs foi transformada em Log_{10} para normalização dos dados e realização da análise estatística. Foi utilizado o teste Anova e Tukey para a comparação entre os grupos. Utilizou-se o

software SPSS 15.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) para análise dos resultados.

Resultados

Os valores médios e desvio padrão da eficácia da descontaminação obtidas pelas diferentes substâncias estão na forma de \log_{10} CFU/mL. Nenhuma substância testada foi capaz de promover a completa desinfecção das amostras, sendo que o NaOCl apresentou capacidade de descontaminação estatisticamente superior aos demais grupos ($P < .05$). A CHX apresentou resultados intermediários tendo maior capacidade de descontaminação do que o GSE ($P < .05$). Não houve diferenças estatísticas entre o grupo do soro fisiológico e o GSE, tanto na forma líquida quanto em gel ($P > .05$).

Tabela 2. Número de UFC/mL (média \pm desvios-padrão) antes e após o preparo com diferentes substâncias químicas auxiliares

Grupos	N	Antes do prepare	Após o preparo
NaOCl ^a	10	3,5 X10 ⁴ \pm 5,0 X10 ⁴	3,0 X 10 ¹ \pm 3,7 X 10 ¹
CHX ^b	10	1,5X 10 ⁵ \pm 2,7 X10 ⁵	6,5X 10 ² \pm 5,2 X10 ²
GSE GEL ^c	10	2,7X 10 ⁴ \pm 1,7 X10 ⁴	4,6X 10 ³ \pm 3,1 X10 ³
GSE LIQ ^c	10	3,0X 10 ⁴ \pm 3,6 X10 ⁴	4,0X 10 ³ \pm 4,5 X10 ³
SORO ^c	5	2,7X 10 ⁴ \pm 1,7 X10 ⁴	2,7X 10 ⁴ \pm 1,7 X10 ⁴

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente, pelo teste de Tukey a 5%.

Discussão

No presente estudo optou-se pela contaminação dos canais radiculares com *E. faecalis* devido este microorganismo desempenhar um importante papel na etiologia de lesões perirradiculares persistentes, estando comumente associados aos insucessos endodônticos, pois são capazes de sobreviver no canal radicular como único microorganismo (18, 19), e possuem a capacidade de resistir em ambientes alcalinos e em elevadas concentração salina (20), além de serem resistentes ao hidróxido de cálcio (21). Para a fase de instrumentação realizou-se a instrumentação com instrumento recíprocante, por ser uma técnica recente e que apresenta poucos estudos na literatura (22).

Os resultados do presente estudo mostraram que o NaOCl obteve uma melhor ação antimicrobiana em relação ao demais grupos sobre *E. faecalis*, rejeitando a hipótese em estudo. A ação do NaOCl sobre as bactérias decorre principalmente em função do seu elevado pH (5, 12), atuando sobre a membrana citoplasmática das bactérias, promovendo alterações biossintéticas causando a desnaturação protéica da bactéria (23). Neste estudo o NaOCl demonstrou possuir um potencial antimicrobiano superior à da CHX, tal resultado está de acordo com outros estudos (24-26). Além da maior ação antimicrobiana atribuída ao NaOCl, entre as substâncias testadas em nosso estudo, ele é a única que apresenta a importante característica de dissolução tecidual (5, 12). Outro importante aspecto para escolha da substância química para o uso em endodontia é sua capacidade de atuar contra biofilmes, uma vez que os microrganismos nem sempre serão encontrados na forma planctônica no canal radicular e podem estar organizados na forma de biofilme. O NaOCl apresentando melhores resultados quando testado

contra biofilmes de *E. faecalis* (27). Por essas características o NaOCl pode ser considerado a substância mais utilizada na endodontia (5).

Por não preencher todos os requisitos de uma substância química auxiliar, substitutos ao NaOCl veem sendo propostos. Entre as substâncias alternativas ao NaOCl, a CHX apresenta as melhores propriedades e preenche o maior número de requisitos para ser usado como substituto ao NaOCl, pois possui comprovada atividade antimicrobiana (5, 9, 12). Seu potencial antimicrobiano é em decorrência de possuir carga positiva e esta carga interagir com a parede celular das bactérias que apresentam carga negativa, interferindo no equilíbrio osmótico das bactérias, levando a morte bacteriana (28). Além da pronunciada atividade antibacteriana da CHX, ela possui a característica substantividade (10) a qual lhe confere a propriedade de ser liberada lentamente e ter atividade antimicrobiana residual. No entanto, apresenta a desvantagem de ter a incapacidade de remover tecidos orgânicos (5). Estudos anteriores demonstram que a CHX possui atividade antimicrobiana igual ou superior ao NaOCl (29-31), entretanto tais resultados estão em desacordo com os nossos achados, pois em nosso estudo a CHX 2% gel mostrou-se com uma atividade antimicrobiana inferior ao NaOCl 5,25%.

O GSE possui em sua composição Proantocinidinas (32), as quais apresentam a característica de indução de ligações cruzadas (33), resultando no aumento das propriedades mecânicas do substrato dentinário desmineralizado (13, 34) e aumentando também a resistência de união de materiais adesivos à dentina (13). Em virtudes dessas características e de estudos prévios demonstrarem que extrato possui alguma atividade antimicrobiana (15, 16, 35), testou-se ele como

substância química auxiliar na forma líquida e gel na concentração de 6,5% baseado em estudos anteriores onde essa substância fora utilizada na odontologia restauradora (13). No entanto, os resultados demonstraram baixa atividade antimicrobiana, não havendo diferenças estatística quando comparado ao grupo controle. A baixa atividade antimicrobiana do GSE pode estar relacionada com o pouco tempo de contato do extrato com as bactérias. Devido aos estudos anteriores (15, 16, 35) utilizarem a metodologia de zonas de inibição em ágar de difusão, estando o GSE em contato pelo período mínimo 24 horas, diferentemente deste estudo onde o tempo de contato não é elevado. Outra razão poderia ser a utilização do *E. faecalis* devido às características deste patógeno (20, 21).

Com as limitações encontradas em nosso estudo podemos concluir que, o NaOCl foi a substância química auxiliar que apresentou melhor capacidade de eliminação de *E. faecalis*. No entanto novos estudos em concentrações maiores do GSE deverão ser realizados para verificar a viabilidade de utilização desta substância.

Referências

- 1.Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. Dent Clin North Am 1974;18:269-96.
- 2.Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1965;20:340-9.
- 3.Paque F, Ganahl D, Peters OA. Effects of root canal preparation on apical geometry assessed by micro-computed tomography. J Endod 2009;35:1056-9.
- 4.Pataky L, Ivanyi I, Grigar A, *et al.* Antimicrobial efficacy of various root canal preparation techniques: an in vitro comparative study. J Endod 2002;28:603-5.
- 5.Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, *et al.* Irrigation in endodontics. Br Dent J 2014;216:299-303.
- 6.Gernhardt CR, Eppendorf K, Kozlowski A, *et al.* Toxicity of concentrated sodium hypochlorite used as an endodontic irrigant. Int Endod J 2004;37:272-80.
- 7.Ari H, Erdemir A, Belli S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. J Endod 2004;30:792-5.
- 8.Farina AP, Cecchin D, Barbizam JV, *et al.* Influence of endodontic irrigants on bond strength of a self-etching adhesive. Aust Endod J 2011;37:26-30.
- 9.Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, *et al.* In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. J Endod 2001;27:452-5.

10. Souza M, Cecchin D, Farina AP, *et al.* Evaluation of chlorhexidine substantivity on human dentin: a chemical analysis. *J Endod* 2012;38:1249-52.
11. Santos JN, Carrilho MR, De Goes MF, *et al.* Effect of chemical irrigants on the bond strength of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. *J Endod* 2006;32:1088-90.
12. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006;32:389-98.
13. Al-Ammar A, Drummond JL, Bedran-Russo AK. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;91:419-24.
14. Xie Q, Bedran-Russo AK, Wu CD. In vitro remineralization effects of grape seed extract on artificial root caries. *J Dent* 2008;36:900-6.
15. Ghonmode WN, Balsaraf OD, Tambe VH, *et al.* Comparison of the antibacterial efficiency of neem leaf extracts, grape seed extracts and 3% sodium hypochlorite against *E. faecalis* - An in vitro study. *J Int Oral Health* 2013;5:61-6.
16. Shrestha B, Theerathavaj ML, Thaweboon S, *et al.* In vitro antimicrobial effects of grape seed extract on peri-implantitis microflora in craniofacial implants. *Asian Pac J Trop Biomed* 2012;2:822-5.
17. de Almeida AP, Souza MA, Miyagaki DC, *et al.* 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* 2014;40:1953-7.
18. Brito PR, Souza LC, Machado de Oliveira JC, *et al.* Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an in vitro study. *J Endod* 2009;35:1422-7.
19. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, *et al.* Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85:86-93.

20. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, *et al.* Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod 2006;32:93-8.
21. Lin YH, Mickel AK, Chogle S. Effectiveness of selected materials against Enterococcus faecalis: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on Enterococcus faecalis. J Endod 2003;29:565-6.
22. Burklein S, Benten S, Schafer E. Shaping ability of different single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth. Int Endod J 2013;46:590-7.
23. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, *et al.* Mechanism of action of sodium hypochlorite. Braz Dent J 2002;13:113-7.
24. Ayhan H, Sultan N, Çirak M, *et al.* Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. International Endodontic Journal 1999;32:99-102.
25. Williamson AE, Cardon JW, Drake DR. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of Enterococcus faecalis. J Endod 2009;35:95-7.
26. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Garcia M, *et al.* Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod 2009;35:711-4.
27. Del Carpio-Perochena AE, Bramante CM, Duarte MA, *et al.* Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. J Endod 2011;37:1134-8.
28. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. Int Endod J 2009;42:288-302.
29. Sena NT, Gomes BP, Vianna ME, *et al.* In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. Int Endod J 2006;39:878-85.

30.Oncag O, Hosgor M, Hilmioglu S, *et al.* Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J* 2003;36:423-32.

31.Du T, Wang Z, Shen Y, *et al.* Effect of Long-term Exposure to Endodontic Disinfecting Solutions on Young and Old *Enterococcus faecalis* Biofilms in Dentin Canals. *Journal of Endodontics*;40:509-14.

32.Wu CD. Grape products and oral health. *J Nutr* 2009;139:1818S-23S.

33.Castellan CS, Pereira PN, Grande RH, *et al.* Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. *Dent Mater* 2010;26:968-73.

34.Bedran-Russo AK, Yoo KJ, Ema KC, *et al.* Mechanical properties of tannic-acid-treated dentin matrix. *J Dent Res* 2009;88:807-11.

35.Al-Habib A, Al-Saleh E, Safer AM, *et al.* Bactericidal effect of grape seed extract on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Toxicol Sci* 2010;35:357-64.

REFERÊNCIAS

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. 419-24, Oct 2009.

AL-HABIB, A. et al. Bactericidal effect of grape seed extract on methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). **J Toxicol Sci**, v. 35, n. 3, p. 357-64, Jun 2010.

AL-SUDANI, D.; AL-SHAHRANI, S. A comparison of the canal centering ability of ProFile, K3, and RaCe Nickel Titanium rotary systems. **J Endod**, v. 32, n. 12, p. 1198-201, Dec 2006.

ALVES, F. R. et al. 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. 871-7, Sep 2012.

ARI, H.; ERDEMIR, A.; BELLI, S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. **J Endod**, v. 30, n. 11, p. 792-5, Nov 2004.

ARIAS-MOLIZ, M. T. et al. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. **J Endod**, v. 35, n. 5, p. 711-4, May 2009.

ARNOLD, M.; RICUCCI, D.; SIQUEIRA, J. F., JR. Infection in a complex network of apical ramifications as the cause of persistent apical periodontitis: a case report. **J Endod**, v. 39, n. 9, p. 1179-84, Sep 2013.

AYHAN, H. et al. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. **International Endodontic Journal**, v. 32, n. 2, p. 99-102, 1999.

BARBIZAM, J. V. et al. Effectiveness of manual and rotary instrumentation techniques for cleaning flattened root canals. **J Endod**, v. 28, n. 5, p. 365-6, May 2002.

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. 333-40, May 2005.

BEDRAN-RUSSO, A. K. et al. Mechanical properties of tannic-acid-treated dentin matrix. **J Dent Res**, v. 88, n. 9, p. 807-11, Sep 2009.

BEHRENTS, K. T.; SPEER, M. L.; NOUJEIM, M. Sodium hypochlorite accident with evaluation by cone beam computed tomography. **Int Endod J**, v. 45, n. 5, p. 492-8, May 2012.

BERBER, V. B. et al. 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. 10-7, Jan 2006.

BERUTTI, E. et al. Canal shaping with WaveOne Primary reciprocating files and ProTaper system: a comparative study. **J Endod**, v. 38, n. 4, p. 505-9, Apr 2012.

BEUS, C. et al. Comparison of the effect of two endodontic irrigation protocols on the elimination of bacteria from root canal system: a prospective, randomized clinical trial. **J Endod**, v. 38, n. 11, p. 1479-83, Nov 2012.

BRITO, P. R. et al. Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an in vitro study. **J Endod**, v. 35, n. 10, p. 1422-7, Oct 2009.

BUCHANAN, L. S. The art of endodontics: cleaning and shaping the root canal system. The apical preparation. Part IV of a four-part series on cleaning and shaping root canals. **Dent Today**, v. 13, n. 1, p. 50, 52, Jan 1994.

BURKLEIN, 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. 590-7, Jun 2013.

BURKLEIN, S. et al. 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. 449-61, May 2012.

BURKLEIN, S.; SCHAFER, E. Apically extruded debris with reciprocating single-file and full-sequence rotary instrumentation systems. **J Endod**, v. 38, n. 6, p. 850-2, Jun 2012.

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

CAPAR, I. D. et al. Comparative study of different novel nickel-titanium rotary systems for root canal preparation in severely curved root canals. **J Endod**, v. 40, n. 6, p. 852-6, Jun 2014.

CARD, S. J. et al. The effectiveness of increased apical enlargement in reducing intracanal bacteria. **J Endod**, v. 28, n. 11, p. 779-83, Nov 2002.

CASTELLAN, C. S. et al. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. **Dent Mater**, v. 26, n. 10, p. 968-73, Oct 2010.

CASTELLO-ESCRIVA, R. et al. In vitro comparison of cyclic fatigue resistance of ProTaper, WaveOne, and Twisted Files. **J Endod**, v. 38, n. 11, p. 1521-4, Nov 2012.

CECCHIN, D. et al. Influence of cervical preflaring on determination of apical file size in the palatal roots of maxillary molars. **Revista Odontol Ciênc**, v. 27, p. 137-142, 2012.

COLDERO, L. G. et al. Reduction in intracanal bacteria during root canal preparation with and without apical enlargement. **Int Endod J**, v. 35, n. 5, p. 437-46, May 2002.

DALTON, B. C. et al. Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. **J Endod**, v. 24, n. 11, p. 763-7, Nov 1998.

DAMETTO, F. R. et al. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 99, n. 6, p. 768-72, Jun 2005.

DE-DEUS, G. et al. Extended cyclic fatigue life of F2 ProTaper instruments used in reciprocating movement. **Int Endod J**, v. 43, n. 12, p. 1063-8, Dec 2010.

DE ALMEIDA, A. P. et al. 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. 1953-7, Dec 2014.

DEL CARPIO-PEROCHENA, A. E. et al. Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. **J Endod**, v. 37, n. 8, p. 1134-8, Aug 2011.

DIETRICH, M. A.; KIRKPATRICK, T. C.; YACCINO, J. M. In vitro canal and isthmus debris removal of the self-adjusting file, K3, and WaveOne files in the mesial root of human mandibular molars. **J Endod**, v. 38, n. 8, p. 1140-4, Aug 2012.

DU, T. et al. Effect of Long-term Exposure to Endodontic Disinfecting Solutions on Young and Old *Enterococcus faecalis* Biofilms in Dentin Canals. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 4, p. 509-514,

ENDO, M. S. et al. Quantification of cultivable bacteria and endotoxin in post-treatment apical periodontitis before and after chemo-mechanical preparation. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 31, n. 10, p. 2575-83, Oct 2012.

ERCAN, E. et al. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. **J Endod**, v. 30, n. 2, p. 84-7, Feb 2004.

ESTRELA, C. et al. Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Braz Dent J**, v. 13, n. 2, p. 113-7, 2002.

EVANS, M. et al. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **Int Endod J**, v. 35, n. 3, p. 221-8, Mar 2002.

FARINA, A. P. et al. Influence of endodontic irrigants on bond strength of a self-etching adhesive. **Aust Endod J**, v. 37, n. 1, p. 26-30, Apr 2011.

FERRAZ, C. C. et al. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. **J Endod**, v. 27, n. 7, p. 452-5, Jul 2001.

FERRER-LUQUE, C. M. et al. Reduction in *Enterococcus faecalis* counts - a comparison between rotary and reciprocating systems. **Int Endod J**, Jul 3 2013.

FORNARI, V. J. et al. 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. 988-94, Nov 2010.

FRIEDMAN, S.; ABITBOL, S.; LAWRENCE, H. P. Treatment outcome in endodontics: the Toronto Study. Phase 1: initial treatment. **J Endod**, v. 29, n. 12, p. 787-93, Dec 2003.

GAMBARINI, G. et al. The influence of three different instrumentation techniques on the incidence of postoperative pain after endodontic treatment. **Ann Stomatol (Roma)**, v. 4, n. 1, p. 152-5, Jan 2013.

GANI, O.; VISVISIAN, C. Apical canal diameter in the first upper molar at various ages. **J Endod**, v. 25, n. 10, p. 689-91, Oct 1999.

GARCIA, M. et al. A comparison of apical transportation between ProFile and RaCe rotary instruments. **J Endod**, v. 38, n. 7, p. 990-2, Jul 2012.

GERGI, R. et al. Micro-computed tomographic evaluation of canal transportation instrumented by different kinematics rotary nickel-titanium instruments. **J Endod**, v. 40, n. 8, p. 1223-7, Aug 2014.

GERNHARDT, C. R. et al. Toxicity of concentrated sodium hypochlorite used as an endodontic irrigant. **Int Endod J**, v. 37, n. 4, p. 272-80, Apr 2004.

GHONMODE, W. N. et al. Comparison of the antibacterial efficiency of neem leaf extracts, grape seed extracts and 3% sodium hypochlorite against *E. faecalis* - An in vitro study. **J Int Oral Health**, v. 5, n. 6, p. 61-6, Dec 2013.

GOMES, B. P. et al. 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. 424-8, Sep 2001.

GOMES, B. P. et al. Microbiological examination of infected dental root canals. **Oral Microbiol Immunol**, v. 19, n. 2, p. 71-6, Apr 2004.

GRANDE, N. M. et al. Micro-computerized tomographic analysis of radicular and canal morphology of premolars with long oval canals. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 106, n. 3, p. e70-6, Sep 2008.

HAAPASALO, M. et al. Irrigation in endodontics. **Br Dent J**, v. 216, n. 6, p. 299-303, Mar 2014.

HOSKINSON, S. E. et al. A retrospective comparison of outcome of root canal treatment using two different protocols. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 93, n. 6, p. 705-15, Jun 2002.

JEANSONNE, M. J.; WHITE, R. R. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. **J Endod**, v. 20, n. 6, p. 276-8, Jun 1994.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H. R.; FITZGERALD, 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, p. 340-9, Sep 1965.

KEREKES, K.; TRONSTAD, L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. **J Endod**, v. 5, n. 3, p. 83-90, Mar 1979.

KOCAK, S. et al. Apical extrusion of debris using self-adjusting file, reciprocating single-file, and 2 rotary instrumentation systems. **J Endod**, v. 39, n. 10, p. 1278-80, Oct 2013.

LIN, Y. H.; MICKEL, A. K.; CHOGLA, S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. **J Endod**, v. 29, n. 9, p. 565-6, Sep 2003.

LOPES, H. P. et al. Fatigue Life of Reciproc and Mtwo instruments subjected to static and dynamic tests. **J Endod**, v. 39, n. 5, p. 693-6, May 2013.

MACHADO, M. E. et al. Influence of reciprocating single-file and rotary instrumentation on bacterial reduction on infected root canals. **Int Endod J**, v. 46, n. 11, p. 1083-7, Nov 2013.

MCGURKIN-SMITH, R. et al. Reduction of intracanal bacteria using GT rotary instrumentation, 5.25% NaOCl, EDTA, and Ca(OH)₂. **J Endod**, v. 31, n. 5, p. 359-63, May 2005.

MICKEL, A. K. et al. The role of apical size determination and enlargement in the reduction of intracanal bacteria. **J Endod**, v. 33, n. 1, p. 21-3, Jan 2007.

MOHAMMADI, Z.; ABBOTT, P. V. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. **Int Endod J**, v. 42, n. 4, p. 288-302, Apr 2009.

NABESHIMA, C. K. et al. Effectiveness of different chemical agents for disinfection of gutta-percha cones. **Aust Endod J**, v. 37, n. 3, p. 118-21, Dec 2011.

NAENNI, N.; THOMA, K.; ZEHNDER, M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. **J Endod**, v. 30, n. 11, p. 785-7, Nov 2004.

NAIR, P. N. et al. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. **J Endod**, v. 16, n. 12, p. 580-8, Dec 1990.

ONCAG, O. et al. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. **Int Endod J**, v. 36, n. 6, p. 423-32, Jun 2003.

ORSTAVIK, D.; KEREKES, K.; MOLVEN, O. Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxide dressing on bacterial infection during treatment of apical periodontitis: a pilot study. **Int Endod J**, v. 24, n. 1, p. 1-7, Jan 1991.

OZTURK, B.; OZER, F. Effect of NaOCl on bond strengths of bonding agents to pulp chamber lateral walls. **J Endod**, v. 30, n. 5, p. 362-5, May 2004.

PAQUE, F.; GANAHL, D.; PETERS, O. A. Effects of root canal preparation on apical geometry assessed by micro-computed tomography. **J Endod**, v. 35, n. 7, p. 1056-9, Jul 2009.

PAQUE, 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. 1394-7, Oct 2011.

PASHLEY, E. L. et al. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. **J Endod**, v. 11, n. 12, p. 525-8, Dec 1985.

PATAKY, L. et al. Antimicrobial efficacy of various root canal preparation techniques: an in vitro comparative study. **J Endod**, v. 28, n. 8, p. 603-5, Aug 2002.

PECIULIENE, V. et al. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. **J Endod**, v. 26, n. 10, p. 593-5, Oct 2000.

PÉCORA, J. D.; CAPELLI, A. Shock of paradigms on the instrumentation of curved root canals. **Brazilian Dental Journal**, v. 17, p. 3-5, 2006.

PECORA, J. D. et al. Influence of cervical preflaring on apical file size determination. **Int Endod J**, v. 38, n. 7, p. 430-5, Jul 2005.

PETERS, O. A. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. **J Endod**, v. 30, n. 8, p. 559-67, Aug 2004.

PINHEIRO, E. T. et al. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. **Int Endod J**, v. 36, n. 1, p. 1-11, Jan 2003.

PLOTINO, G. et al. Cutting efficiency of Reciproc and waveOne reciprocating instruments. **J Endod**, v. 40, n. 8, p. 1228-30, Aug 2014.

PLOTINO, G. et al. Cyclic fatigue of Reciproc and WaveOne reciprocating instruments. **Int Endod J**, v. 45, n. 7, p. 614-8, Jul 2012.

RETAMOZO, B. et al. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. **J Endod**, v. 36, n. 3, p. 520-3, Mar 2010.

ROCAS, I. N. et al. Apical root canal microbiota as determined by reverse-capture checkerboard analysis of cryogenically ground root samples from teeth with apical periodontitis. **J Endod**, v. 36, n. 10, p. 1617-21, Oct 2010.

ROCAS, I. N.; SIQUEIRA, J. F., JR. Comparison of the in vivo antimicrobial effectiveness of sodium hypochlorite and chlorhexidine used as root canal irrigants: a molecular microbiology study. **J Endod**, v. 37, n. 2, p. 143-50, Feb 2011.

ROCAS, I. N.; SIQUEIRA, J. F., JR.; SANTOS, K. R. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. **J Endod**, v. 30, n. 5, p. 315-20, May 2004.

ROLLISON, S.; BARNETT, F.; STEVENS, R. H. Efficacy of bacterial removal from instrumented root canals in vitro related to instrumentation technique and size. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 94, n. 3, p. 366-71, Sep 2002.

SANTOS, J. N. et al. Effect of chemical irrigants on the bond strength of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. **J Endod**, v. 32, n. 11, p. 1088-90, Nov 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. 42-7, Jan 1999.

SCHÄFER, E.; ERLER, M.; DAMMASCHKE, T. Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments. Part 1. Shaping ability in simulated curved canals. **International Endodontic Journal**, v. 39, n. 3, p. 196-202, 2006.

SCHILDER, H. Cleaning and shaping the root canal. **Dent Clin North Am**, v. 18, n. 2, p. 269-96, Apr 1974.

SENA, N. T. et al. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. **Int Endod J**, v. 39, n. 11, p. 878-85, Nov 2006.

SHRESTHA, B. et al. 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. 822-5, Oct 2012.

SIQUEIRA, J. F., JR. et al. 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. 1044-50, Aug 2013.

SIQUEIRA, J. F., JR. et al. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. **J Endod**, v. 25, n. 5, p. 332-5, May 1999.

SIQUEIRA, J. F., JR. et al. 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. 331-4, Jun 2000.

SJOGREN, U. et al. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. **Int Endod J**, v. 24, n. 3, p. 119-25, May 1991.

SOUZA, M. et al. Evaluation of chlorhexidine substantivity on human dentin: a chemical analysis. **J Endod**, v. 38, n. 9, p. 1249-52, Sep 2012.

STUART, C. H. et al. Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. **J Endod**, v. 32, n. 2, p. 93-8, Feb 2006.

SUNDQVIST, G. et al. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 85, n. 1, p. 86-93, Jan 1998.

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

VANNI, J. R. et al. Influence of cervical preflaring on determination of apical file size in maxillary molars: SEM analysis. **Braz Dent J**, v. 16, n. 3, p. 181-6, 2005.

WILLIAMSON, A. E.; CARDON, J. W.; DRAKE, D. R. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of Enterococcus faecalis. **J Endod**, v. 35, n. 1, p. 95-7, Jan 2009.

WU, C. D. Grape products and oral health. **J Nutr**, v. 139, n. 9, p. 1818S-23S, Sep 2009.

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. 900-6, Nov 2008.

YARED, G. Canal preparation using only one Ni-Ti rotary instrument: preliminary observations. **Int Endod J**, v. 41, n. 4, p. 339-44, Apr 2008.

YARED, G. M.; DAGHER, F. E. Influence of apical enlargement on bacterial infection during treatment of apical periodontitis. **J Endod**, v. 20, n. 11, p. 535-7, Nov 1994.

ZEHNDER, M. Root canal irrigants. **J Endod**, v. 32, n. 5, p. 389-98, May 2006.

ZHAO, D. et al. Root canal preparation of mandibular molars with 3 nickel-titanium rotary instruments: a micro-computed tomographic study. **J Endod**, v. 40, n. 11, p. 1860-4, Nov 2014.

ZHU, W. C. et al. Anatomy of sodium hypochlorite accidents involving facial ecchymosis - a review. **J Dent**, v. 41, n. 11, p. 935-48, Nov 2013.

APÊNDICES

APÊNDICE 1

Tabelas com valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logaritmo e redução bacteriana expressa em porcentagem.

Grupo 1 = R25

Grupo 2 = R25 + Mtwo

Tabela 3. Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem.

Grupos	Amostras	IUFC/mL	FUFC/MI	Loginicial	LogFinal	Redução%
1	1	97333,33	10666,67	4,9883	4,0280	89,0411
1	2	4266,667	4000	3,6301	3,6021	6,2500
1	3	20000	16000	4,3010	4,2041	20,0000
1	4	34666,67	3880	4,5399	3,5888	88,8077
1	5	66666,67	2040	4,8239	3,3096	96,9400
1	6	16000	2266,667	4,2041	3,3554	85,8333
1	7	93333,33	1493,333	4,9700	3,1742	98,4000
1	8	26666,67	24266,67	4,4260	4,3850	9,0000
1	9	6666,667	5133,333	3,8239	3,7104	23,0000
1	10	106666,7	3866,667	5,0280	3,5873	96,3750
1	11	37333,33	5733,333	4,5721	3,7584	84,6429
1	12	16000	666,6667	4,2041	2,8239	95,8333
1	13	45333,33	18666,67	4,6564	4,2711	58,8235
1	14	93333,33	5600	4,9700	3,7482	94,0000
1	15	33333,33	1066,667	4,5229	3,0280	96,8000
1	16	13333,33	2400	4,1249	3,3802	82,0000
1	17	37333,33	2666,667	4,5721	3,4260	92,8571
1	18	28000	5333,333	4,4472	3,7270	80,9524
1	19	13333,33	10666,67	4,1249	4,0280	20,0000
1	20	2933,333	6666,667	3,4674	3,8239	-127,2727
Média		39626,67	6654			59,6142
Desvio Padrão		33483,89	6369,401			55,267564

Tabela 4. Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem.

Grupo	Amostras	IUFC/mL	FUFC/MI	Loginicial	LogFinal	Redução%
2	2	2133,333	5333,333	3,3291	3,7270	-150,0000
2	3	46666,67	3200	4,6690	3,5051	93,1429
2	4	34666,67	2666,667	4,5399	3,4260	92,3077
2	5	69333,33	2266,667	4,8409	3,3554	96,7308
2	6	85333,33	3200	4,9311	3,5051	96,2500
2	7	16000	6933,333	4,2041	3,8409	56,6667
2	8	18666,67	6000	4,2711	3,7782	67,8571
2	9	26666,67	2666,667	4,4260	3,4260	90,0000
2	10	54666,67	4400	4,7377	3,6435	91,9512
2	11	33333,33	4000	4,5229	3,6021	88,0000
2	12	6666,667	826,6667	3,8239	2,9173	87,6000
2	13	12000	2000	4,0792	3,3010	83,3333
2	14	93333,33	2666,667	4,9700	3,4260	97,1429
2	15	60000	6320	4,7782	3,8007	89,4667
2	16	17333,33	3200	4,2389	3,5051	81,5385
2	17	46666,67	8266,667	4,6690	3,9173	82,2857
2	18	73333,33	8266,667	4,8653	3,9173	88,7273
2	19	22666,67	7200	4,3554	3,8573	68,2353
2	20	14666,67	1493,333	4,1663	3,1742	89,8182
Média		37506,67	4105,333			74,1777
Desvio Padrão		27235,38	2348,603			53,810641

APÊNDICE 2

Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem.

Grupo 1 = Soro fisiológico

Grupo 2 = Hipoclorito de Sódio 5,25%

Grupo 3 = Clorexidina Gel2%

Grupo 4= Extrato de semente de uva Gel 6,5%

Grupo 5= Extrato de semente de uva Líquido 6,5%

Tabela 5. Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem.

Grupo	Amostras	UFC/mL	UFC/MI	Loginicial	LogFinal	Redução%
1	1	104000	5,017033	4533,333	3,656418	95,6410
1	2	6800	3,832509	12000	4,079181	-76,4706
1	3	5466,667	3,737723	1173,333	3,069421	78,5366
1	4	24000	4,380211	8000	3,90309	66,6667
1	5	66666,67	4,823909	1866,667	3,271067	97,2000
Média		41386,67	4,358277	5514,667	3,595835	52,3147
Desvio Padrão		42861,08	0,572882	4509,837	0,422577	73,09425

Tabela 6. Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem.

Grupos	Amostras	IUFC/mL	FUFC/MI	Loginicial	LogFinal	Redução%
2	2	137333,3	5,137776	26,66667	1,425969	99,9806
2	3	16933,33	4,228742	13,33333	1,124939	99,9213
2	4	3426,667	3,534872	40	1,60206	98,8327
2	5	19600	4,292256	26,66667	1,425969	99,8639
2	6	122666,7	5,088727	13,33333	1,124939	99,9891
2	7	17333,33	4,238882	133,3333	2,124939	99,2308
2	8	4080	3,61066	13,33333	1,124939	99,6732
2	9	30666,67	4,486667	13,33333	1,124939	99,9565
2	10	5733,333	3,758407	13,33333	1,124939	99,7674
Média		35780	3,980296	30,66667	1,332857	94,7216
Desvio Padrão		50638,72	1,051959	37,21144	0,329407	15,71808

Tabela 7. Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem.

Grupos	Amostras	IUFC/mL	FUFC/MI	Loginicial	LogFinal	Redução%
3	1	784000	5,894316	53,33333	1,726999	99,9932
3	2	9066,667	3,957448	13,33333	1,124939	99,8529
3	3	2053,333	3,312459	1333,333	3,124939	35,0649
3	4	653,3333	2,815135	333,3333	2,522879	48,9796
3	5	157333,3	5,196821	1066,667	3,028029	99,3220
3	6	133,3333	2,124939	906,6667	2,957448	
3	7	32266,67	4,508754	960	2,982271	97,0248
3	8	533,3333	2,726999	400	2,60206	25,0000
3	9	22666,67	4,355388	120	2,079181	99,4706
3	10	472000	5,673942	1333,333	3,124939	99,7175
Média		148070,7	4,05662	652	2,527368	78,2695
Desvio Padrão		267620,5	1,299179	524,3484	0,680736	32,02423

Tabela 8. Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem.

Grupo	Amostras	IUFC/mL	FUFC/MI	Loginicial	LogFinal	Redução%
4	1	18666,67	4,271067	6000	3,778151	67,8571
4	2	33333,33	4,522879	2666,667	3,425969	92,0000
4	3	34800	4,541579	3253,333	3,512329	90,6513
4	4	13466,67	4,12926	1866,667	3,271067	86,1386
4	5	3466,667	3,539912	9333,333	3,970037	-169,2308
4	6	41333,33	4,6163	4666,667	3,669007	88,7097
4	7	30800	4,488551	8000	3,90309	74,0260
4	8	61333,33	4,787697	8280	3,91803	86,5000
4	9	9066,667	3,957448	933,3333	2,970037	89,7059
4	10	28266,67	4,451275	1333,333	3,124939	95,2830
Média		27453,33	4,330597	4633,333	3,554265	60,1641
Desvio Padrão		17085,34	0,368189	3101,937	0,351856	81,03874

Tabela 9. Valores da contaminação inicial, final em UFC/mL e em logarítimo e redução bacteriana expressa em porcentagem.

Grupo	Amostras	IUFC/mL	FUFC/MI	Loginicial	LogFinal	Redução%
5	1	6266,667	3,797037	2666,667	3,425969	57,4468
5	2	11066,67	4,044017	10133,33	4,005752	8,4337
5	3	2666,667	3,425969	6666,667	3,823909	-150,0000
5	4	22666,67	4,355388	3066,667	3,486667	86,4706
5	5	800	2,90309	706,6667	2,849215	11,6667
5	6	80000	4,90309	53,33333	1,726999	99,9333
5	7	106666,7	5,028029	773,3333	2,888367	99,2750
5	8	1333,333	3,124939	813,3333	2,910269	39,0000
5	9	38133,33	4,581305	533,3333	2,726999	98,6014
5	10	31866,67	4,503337	14666,67	4,166331	53,9749
Média		30146,67	4,06662	4008	3,201048	40,4802
Desvio Padrão		36277,09	0,736899	4945,943	0,730532	75,34864

APÊNDICE 3

Aprovação do Comitê de Ética e pesquisa.

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da eficácia antimicrobiana de instrumentos reciprocantes e uma substância química experimental

Pesquisador: Fernando Soveral D Aviz

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 25882614.9.0000.5342

Instituição Proponente: Universidade de Passo Fundo/Vice-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 570.397

Data da Relatoria: 26/03/2014

Apresentação do Projeto:

O projeto foi anexado na íntegra e sob forma reduzida para apreciação pelo CEP. O pesquisador apresentou o termo de doação de órgãos assinado pelo responsável pelo banco de dentes.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a eficácia de uma substância química auxiliar utilizando diferentes técnicas de instrumentação na descontaminação de canais radiculares.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme relatado pelo pesquisador, não haverá riscos há nenhum indivíduo, uma vez que os dentes serão obtidos do Banco de Dentes da FOUFP. Os resultados obtidos após a execução do estudo poderão esclarecer sobre o melhor método para identificação da anatomia dentária interna: canais radiculares.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo está bem delineado. Apresenta uma metodologia concisa e adequada para alcançar os objetivos do estudo. O tamanho da amostra (número de dentes extraídos) é estatisticamente adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo foi instruído e apresentado de maneira completa e adequada. Os compromissos do (a)

Endereço: BR 285- Km 171 Campus I - Centro Administrativo
Bairro: Divisão de Pesquisa / São José **CEP:** 99.010-970
UF: RS **Município:** PASSO FUNDO
Telefone: (54)3316-8370 **Fax:** (54)3316-8798 **E-mail:** cep@upf.br

APÊNDICE 4

Ilustrações dos procedimentos de contaminação e mensuração da mesma.



Fig. 1. Caldo E. faecalis (American Type Collection 19433)



Fig. 2. Contaminação das amostras com E. faecalis.



Fig. 3. Amostras no suporte após renovação do caldo de E.faecalis.



Fig. 4. Culturas em àgar sangue para verificar a ausência de outros microrganismos além de E. faecalis.



Fig. 5. Preenchimento do canal radicular com solução salina estéril antes da inserção do cone de papel.



Fig. 6. Inserção do cone de papel no canal para mensuração da contaminação inicial.



Fig. 7 Dissolução da contaminação em solução salina estéril.

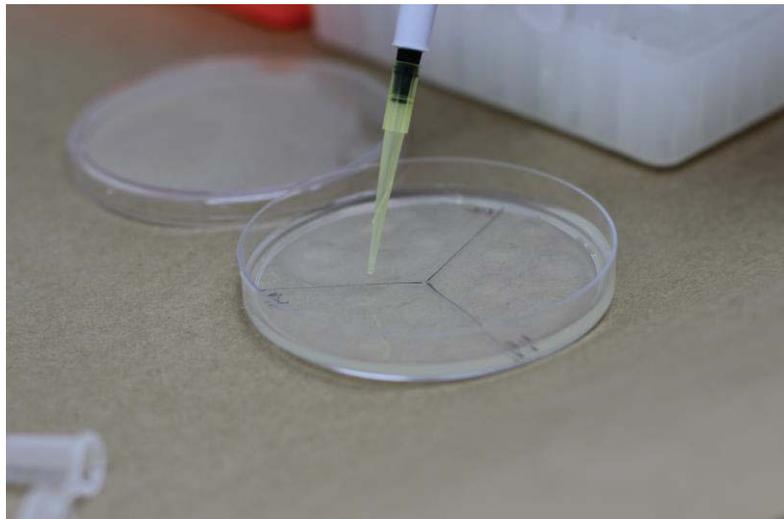


Fig. 8 Preenchimento da placa de Petry com diferentes diluições da contaminação, pela técnica das 5 gotas.



Fig. 9 Inserção do cone de papel para mensuração da contaminação final.



Fig. 10 Contagem da contaminação inicial.

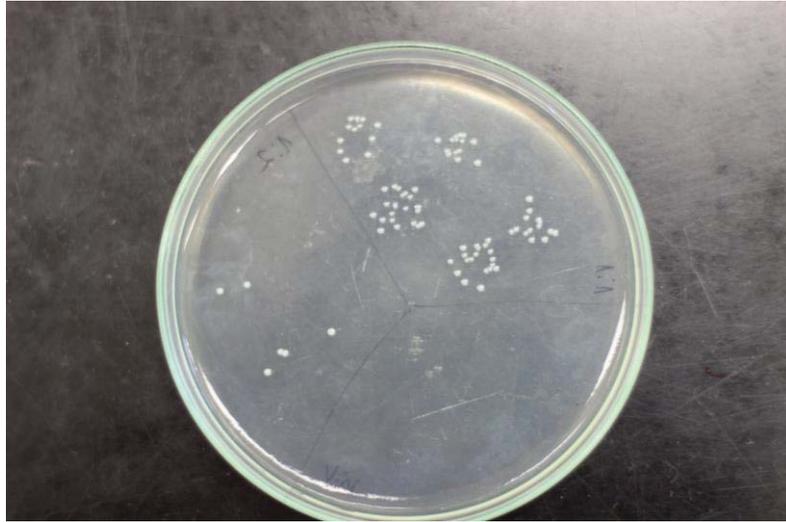


Fig. 11 Contagem da contaminação final.