

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**

**Tiago Lange dos Santos**

**AÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO  
LASER DE DIODO DE ALTA POTÊNCIA  
EMPREGADO DURANTE O PREPARO DE  
CANAIS CONTAMINADOS COM  
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

**Passo Fundo**

**2012**



**Tiago Lange dos Santos**

**AÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO  
LASER DE DIODO DE ALTA POTÊNCIA  
EMPREGADO DURANTE O PREPARO DE  
CANAIS CONTAMINADOS COM  
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

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. Eduardo Dall’Magro, e coorientação da Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Luciana Ruschel dos Santos.

**Passo Fundo**

**2012**



**Ata**

CIP – Catalogação na Publicação

---

S237a Santos, Tiago Lange dos

Ação do efeito antimicrobiano do laser de diodo de alta potência empregado durante o preparo de canais contaminados com enterococcus faecalis / Tiago Lange dos Santos. – 2012.

134 p. : il. color. ; 21 cm.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade de Passo Fundo, 2012.

Orientação: Prof. Dr. Eduardo Dall’Magro.

Coorientação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Ruschel dos Santos.

1. Endodontia. 2. Canal radicular - Tratamento. 3. Solução (Química). 4. Lasers em odontologia. I. Dall’Magro, Eduardo, orientador. II. Santos, Luciana Ruschel dos, coorientadora. III. Título.

CDU: 616.314-18

---

Catalogação: Bibliotecária Jucelei Rodrigues Domingues - CRB 10/156

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

Tiago Lange dos Santos nasceu em Passo Fundo em 1º de julho de 1979. Durante a graduação em Odontologia, cursada na Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), foi um dos fundadores do Diretório Acadêmico, o qual presidiu por duas vezes (1999-2000 e 2001-2002), além de bolsista Pibic (2001-2002) e presidente em duas semanas acadêmicas (1999 e 2000), colando grau em 2002. Registrado no Conselho Regional de Odontologia do Rio Grande do Sul (CRO-RS) sob o número 14220, é especialista em Endodontia pela Universidade Cruzeiro do Sul (UNICSUL-SP, 2008) e aluno da Universidade de Passo Fundo (UPF) no Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGOdonto), nível de Mestrado. Foi professor estagiário das disciplinas de Clínica Integrada II (2010-2), Endodontia I, Clínica Integrada IV (2011-1) e Clínica Integrada IV (2011-2). É coautor do artigo científico intitulado “Resistência adesiva de braquetes metálicos e cerâmicos à resina composta envelhecida” (“Bond strength of ceramic and metallic brackets to aged composite resin”), o qual será submetido a periódico especializado. Entre suas participações em eventos, destaca-se a exposição de painel no Congresso Internacional Meeting Annual ADM 2011, com o título “Bonegrafts from bonebanks: Brazilian protocols for using in dentistry”, publicado nos anais. Trabalhou como Cirurgião Dentista em clínicas privadas nas cidades de Não-Me-Toque (2003-

2005), Passo Fundo (2003-2005), Sertão (2003-2008); em serviço público nas cidades de Mato Castelhanao (2007-2009) e Passo Fundo (2005-2007 e 2009-2010); e como Endodontista em Arvorezinha (2008-2010). Desde 2005, atua como Cirurgião Dentista em seu consultório odontológico (Oral Dr Odontologia), em Passo Fundo, e, desde 2009, como Endodontista, em Sananduva.

## DEDICATÓRIA

Ao meu pai Alci, por todo o incentivo e apoio, pelos ensinamentos e por sempre afirmar que “o conhecimento é o único patrimônio verdadeiro do homem”.

A minha mãe Renaci, pelo amor, carinho, apoio e compreensão.

Ao meu irmão Cristiano, o primeiro mestre de nossa família, pela confiança, pelo apoio, incentivo e ensinamento de vida, um exemplo a ser seguido, e pelo amor que nos une.

Ao meu filho Davi, de cuja companhia precisei abdicar por muito tempo, para que este trabalho pudesse ser realizado, pela sua alegria, demonstrada em sorrisos que me motivaram, dia a dia.

A minha esposa Taís, pelo amor, pela paciência, pelas abdições e compreensão, minha eterna gratidão.

Aos meus irmãos Vinícius e Renan, pelo amor que nos une.

Ao meu padrinho de batismo Jairo, que foi o espelho para me tornar um Cirurgião Dentista, por seus ensinamentos de ética e honestidade que sempre me acompanharam.

Aos meus avós Evaldo (*in memoriam*) e Cecília (*in memoriam*), que tiveram a formação da escola da vida e foram os primeiros incentivadores dessa caminhada, ainda lá nos distantes anos de ensino fundamental.

Aos meus tios e amigos.

## AGRADECIMENTOS

A Deus.

A toda a minha família, que compreendeu minha ausência e me deu suporte nas horas mais difíceis.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Eduardo Dall’Magro, pelos seus ensinamentos, pela disposição, atenção, colaboração e compreensão durante toda essa caminhada, além de todo o incentivo e confiança depositados em mim, meu eterno respeito e minha gratidão.

A minha coorientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Ruschel dos Santos, pelos ensinamentos, paciência e auxílio.

Ao Prof. Dr. Alvaro Della Bona, pelos ensinamentos da correta postura de um docente, por seus conselhos, orientações, clareza, disponibilidade e seriedade durante toda essa jornada, bem como pelo seu brilhantismo na condução de nosso curso.

Aos demais professores do Mestrado, pela amizade, incentivo, apoio, confiança, franqueza e ensinamentos de docência.

À Prof<sup>a</sup>. Ms. Marilei Susin e ao senhor Clarício dos Santos, da Faculdade de Agronomia da UPF, pela disponibilidade do Instituto de Biotecnologia (G2) e toda a atenção e o apoio a mim concedidos durante a realização deste estudo.

Ao Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO), da Universidade de São Paulo (USP), pela disponibilidade do empréstimo do aparelho de laser utilizado no trabalho.

Aos colegas de mestrado, que me acompanharam nessa trajetória e compartilharam comigo conhecimentos, angústias, alegrias, tristezas e amizade.

A Fernanda Colla, por todo o auxílio, pela dedicação, presteza e disponibilidade.

Às alunas Bruna Corrêa e Bruna Fronza, da Faculdade de Odontologia da UPF, pelo auxílio, pela disponibilidade e dedicação.

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

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia da UPF, por todo o auxílio.

A Carla, funcionária da Biblioteca da UPF, pelo auxílio, pela orientação nas buscas por literatura e pela paciência.

Aos meus sócios de clínica privada, CD Rogério Tesser e Prof<sup>a</sup>. Ms. Vanessa Borgherti, por compreenderem minha ausência, dando-me incentivo, apoio e suporte durante toda essa trajetória.

A minha secretária Kellen, por toda sua disponibilidade e auxílio.

**MEU MUITO OBRIGADO!**

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>xiii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>xiv</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>20</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>24</b>
<b>PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>62</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>AÇÃO ANTIMICROBIANA DO HIPOCLORITO DE SÓDIO A 2,5% E CLOREXIDINA GEL 2% EM RAÍZES CONTAMINADAS COM <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i>.....</b>	<b>63</b>
<b>I.1 Introdução .....</b>	<b>66</b>
<b>I.2 Materiais e métodos .....</b>	<b>67</b>
I.2.1 Preparo do inóculo .....	69
I.2.2 Contaminação dos canais radiculares.....	69
I.2.3 Divisão dos grupos.....	69
I.2.4 Controle dos níveis de contaminação (grupo controle) .....	69
I.2.5 Tratamentos .....	70
I.2.6 Análise microbiológica após os tratamentos.....	72
<b>I.3 Resultados .....</b>	<b>73</b>
<b>I.4 Discussão.....</b>	<b>75</b>
<b>I.5 Conclusão.....</b>	<b>77</b>
<b>Referências.....</b>	<b>78</b>
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>EFEITO ANTIMICROBIANO DO LASER DE DIODO DE ALTA POTÊNCIA ASSOCIADO A DIFERENTES IRRIGANTES NO PREPARO DE CANAIS CONTAMINADOS COM <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i>.....</b>	<b>82</b>
<b>II.1 Introdução.....</b>	<b>85</b>
<b>II.2 Materiais e métodos .....</b>	<b>86</b>
II.2.1 Controle de esterilização .....	88
II.2.2 Preparo do inóculo .....	89
II.2.3 Contaminação dos canais radiculares.....	89
II.2.4 Controle da contaminação .....	89

II.2.5 Divisão dos grupos.....	90
II.2.6 Preparo do canal e emprego do laser.....	91
II.2.7 Avaliação microbiológica.....	95
<b>II.3 Resultados.....</b>	<b>97</b>
<b>II.4 Discussão.....</b>	<b>99</b>
<b>Referências .....</b>	<b>102</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>107</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>115</b>
<b>APÊNDICE 1 – Análise estatística.....</b>	<b>116</b>
<b>APÊNDICE 2 – Preparo dos canais - Capítulo II.....</b>	<b>119</b>
<b>APÊNDICE 3 – Amostra lacrada após ringer .....</b>	<b>123</b>
<b>APÊNDICE 4 – Resultados da contagem dos <i>E. faecalis</i> pós-tratamento em duplicata, conforme cada grupo do Capítulo II....</b>	<b>124</b>
<b>Artigo I submetido .....</b>	<b>131</b>
<b>Artigo II submetido .....</b>	<b>132</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela I.1 - Teste de Tukey a 5% de significância. ....	73
Tabela II.1- Grupos experimentais conforme substância química utilizada no preparo do canal e emprego subsequente ou não do laser..	90
Tabela II.2 - LOG CFU and reduction in relation ao GC+. ....	98

## LISTA DE FIGURAS

Figura I.1 - Suporte de latão para sustentação das amostras. ....	71
Figura I.2 - Placa de petry sem crescimento bacteriano.....	74
Figura I.3 - Placa de petry com crescimento bacteriano. ....	74
Figura II.1 - Câmara de fluxo laminar com o material para os tratamentos. ....	87
Figura II.2 - Amostras após serem autoclavadas.....	88
Figura II.3 - Instrumentação rotatória com Pro Taper (lima F2). ....	92
Figura II.4 - Substâncias químicas utilizadas.....	92
Figura II.5 - Início da aplicação. ....	93
Figura II.6 - Recuando durante a aplicação. ....	94
Figura II.7 - Continuação da aplicação.....	94
Figura II.8 - Finalizando a aplicação.....	95
Figura II.9 - Cone de papel inserido na amostra preenchida com solução de Ringer. ....	96
Figura II.10 - Eurotip® com cone de papel para ser sonicado. ....	96
Figura II.11 - Sonicador utilizado na pesquisa.....	97
Figura II.12 - Placa de petry sem crescimento bacteriano. ....	98

## LISTA DE ABREVIATURAS

- = - Igual
- ® - Marca registrada
- > - Maior que
- + - Mais
- < - Menor que
- µL - Microlitro
- µm - Micrômetro
- # - Número
- % - Porcentagem
- Anova - Análise da variância
- ATCC - American Type Culture Collection (Coleção Americana de Tipos de Cultura)
- BHI - Brain heart infusion (Infusão cérebro-coração)
- C. albicans* – *Candida albicans*
- CEP - Comitê de Ética em Pesquisa
- CFU - Colony Formation Unit (Unidade Formadora de Colônia)
- CHX - Clorexidina
- cm - Centímetro
- CO<sup>2</sup> - Dióxido de carbono (laser com emissão em  $\lambda=9.600\text{nm}$  ou  $10.600\text{nm}$ )
- CRT - Comprimento real de trabalho
- CW - Modo contínuo
- DNA - Ácido desoxorribonucléico
- E. faecalis* - *Enterococcus faecalis*
- EDTA-T - Ácido etilenodiaminotetracético dissódico + tergentol
- EPS - Matriz extrapolissacarídea
- Er:Cr:YSSGG - Granada de ítrio, escândio e gálio dopada com érbio e
- Er:YAG - Granada de ítrio e alumínio dopada com érbio
- EU - Unidades de endotoxina
- FO - Faculdade de Odontologia
- GaAlAs - Arseneto de Gálio-Alumínio
- h - Hora
- H<sub>2</sub>O - Água

He-Ne - Hélio-neônio  
Ho:YAG - Granada de ítrio e alumínio dopada com hólmio  
Hz - Hertz  
InGaAsp - Arseneto de índio gálio e fósforo (laser de diodo com emissão em  $\lambda = 670\text{nm}$ )  
J - Joule  
KF - Kerr- file  
l - Litro  
LAD - Desinfecção ativada por luz  
Laser - Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (amplificação da luz por emissão estimulada de radiação)  
LELO - Laboratório Especial de Laser em Odontologia  
LPS - Lipopolissacarídeo  
MEV - Microscopia eletrônica de varredura  
mJ - Milijoule  
mW - Miliwatt  
ml – Mililitro  
n - número de elementos na amostra  
NaCl - Cloreto de sódio  
NaOCl - Hipoclorito de sódio  
Nd:YAG - Neodímio: ítrio-alumínio-granada  
nm - Nanômetro  
°C - Grau Celsius  
P - Percentil  
*P. endodontalis* – *Porphyromonas endodontalis*  
*P. gingivalis* – *Porphyromonas gingivalis*  
*P. intermédia* – *Prevotella intermedia*  
PAD - Desinfecção fotoativada  
PDT - Photodynamic Therapy (terapia fotodinâmica)  
pH - Potencial hidrogênico  
PQM - Preparo químico-mecânico  
s - Segundo  
*S. aureus* – *Staphylococcus aureus*  
TB- Azul de toluidina  
TSA - Tryptic Soy Agar (ágarde soja tripticase)  
TSB - Tryptic Soy Broth (caldo de soja tripticase)  
UFC - Unidade formadora de colônia  
UPF - Universidade de Passo Fundo  
USP - Universidade de São Paulo  
W - Watt

# **AÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO LASER DE DIODO DE ALTA POTÊNCIA EMPREGADO DURANTE O PREPARO DE CANAIS CONTAMINADOS COM *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

Tiago Lange dos Santos<sup>1</sup>

## **RESUMO**

A terapia endodôntica objetiva a descontaminação do sistema de canais radiculares, além do correto selamento e do acompanhamento do elemento dental. Mesmo com as atuais técnicas de instrumentação e os diferentes tipos de soluções irrigantes auxiliares, como NaOCl e CHX, há dificuldade de penetração e ação nesses sistemas, devido às suas diferentes formas e à resistência dos patógenos presentes. O *E. faecalis*, bactéria associada a infecções persistentes do canal radicular, possui facilidade em penetrar os túbulos dentinários. A utilização do laser de diodo de alta potência pode diminuir a incidência de microrganismos que sobreviveram ao preparo químico-mecânico convencional. Neste

---

<sup>1</sup> Mestrando em Odontologia pela Universidade de Passo Fundo.

trabalho, utilizaram-se cento e trinta (130) dentes unirradiculares humanos de canal único. As amostras foram inoculadas por *E. faecalis* por 14 dias e divididas, aleatoriamente, em 6 grupos: grupo controle positivo (GC) sem tratamento; G NaOCl 2,5%; G NaOCl/L 2,5% + laser de diodo 3 W; G CHX 2%; e G CHX/L 2% + laser de diodo 3W e G NaCl + laser de diodo 3 W. A instrumentação foi híbrida com sistema rotatório Protaper e limas manuais para todos os grupos. Após o tratamento convencional, irradiaram-se os grupos NaOCl/L, CHX/L e NaCl/L com laser de diodo de alta potência. Tratados todos os grupos, avaliou-se a persistência de *E. faecalis* no interior dos canais. O grupo NaOCl teve redução de 89,82%; o NaOCl/L, de 99,42%; o G CHX, de 81,86%; o G CHX/L, de 93,48% e o G NaCl, de 65,40%. As médias foram comparadas pela Anova e complementadas pelo teste de Tukey a um nível de 5% de significância. Todos os grupos preparados apresentaram diferença estatística significativa comparados ao GC, havendo diferença estatística do G NaCl/L em relação aos demais. Houve melhora da ação das substâncias químicas quando associada ao laser de diodo com 3 W de potência.

**Palavras-chave:** laser de diodo, hipoclorito de sódio, clorexidina, *Enterococcus faecalis*, irrigantes do canal radicular.

# **INTRACANAL MICROBIAL REDUCTION CONTAMINATED WITH *ENTEROCOCCUS FAECALIS* USING DIODE LASER OF HIGH POTENCY**

## **ABSTRACT**

Endodontic therapy aims to decontaminate root canal systems, as well as the correct sealing and treatment of the dental element. Even with current instrumentation techniques and different types of adjunct irrigating solutions, such as sodium hypochlorite and chlorhexidine, there are obstacles regarding penetration and action on these root canal systems due to their different shapes and resistance of the present pathogens. *E. faecalis*, bacteria associated with persistent infections of root canal, easily penetrates dentinal tubules. The use of high power diode laser may decrease the incidence of microorganisms that had survived conventional chemical-mechanic preparation. In this study, one hundred and thirty (130) single-rooted human teeth with single canal were used. The samples were filled with *E. Faecalis* for 14 days and randomly divided in 6 groups: positive control group (CG) without treatment; G NaOC1 2.5%; G NaOC1/L 2.5% + diode laser 3 W; G CHX

2%; G CHX/L 2% + diode laser 3W; and G NaCl + diode laser 3 W. Instrumentation was hybrid with rotary system Protaper and manual files for all groups. After conventional treatment, groups NaOCl/L, CHX/L, and NaCl/L were irradiated. After treating all groups, the persistence of *E. faecalis* in the interior of the canals was assessed. The group NaOCl had a reduction of 89.82%; the NaOCl/L, 99.42%; G CHX, 81.86%; G CHX/L, 93.48%; and G NaCl, 65.40%. Averages were compared through Anova and complemented by Tukey test at 5% significance. All prepared groups presented significant statistical difference compared to CG, showing statistical difference of G NaCl/L in relation to other groups. There was an improvement in the action of chemical substances when associated to diode laser at 3 W power.

**Key words:** lasers semiconductor, sodium hypochlorite, chlorhexidine, *enterococcus faecalis*, root canal irrigants.

## INTRODUÇÃO

A presença de bactérias após necrose pulpar é fundamental para o estabelecimento de doença periapical. Em dentes com necrose pulpar, as bactérias são inicialmente restritas ao sistema de canais radiculares. No entanto, os túbulos dentinários e ramificações do canal são importantes áreas de propagação, contribuindo para a criação de um grande número de formas bacterianas (TANOMARU FILHO et al., 2008).

O sucesso da terapia endodôntica tem aumentado com o desenvolvimento e a adoção de novas tecnologias (FONSECA et al., 2008). Apesar disso, a maioria das falhas está relacionada à falta de limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares (FONSECA et al., 2008; RETAMOZO et al., 2010).

Um dos objetivos da terapia endodôntica é a descontaminação do sistema de canais radiculares (SIQUEIRA JR. & RÔÇAS, 2008), além do correto selamento e do acompanhamento do elemento dental (RETAMOZO et al., 2010).

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é o irrigante mais frequentemente utilizado no tratamento endodôntico (CAMPS et al., 2009; TIRALI et al., 2009; VIANNA & GOMES, 2009; DEWSNUP et al., 2010). Por ter atividade antibacteriana e ação solvente para tecidos necróticos e vitalizados, também opera um efeito citotóxico sobre os tecidos periapicais, especialmente em altas concentrações (SENA et al., 2006;

OLIVEIRA et al., 2007), podendo causar reações alérgicas (VIANNA et al., 2004; TIRALI et al., 2009), e não remove a camada de *smear layer* (ARIAZ-MOLIZ, 2010).

A clorexidina (CHX) é um potente agente antimicrobiano com substantividade, amplo espectro, eficácia sobre bactérias gram-negativas, gram-positivas e leveduras; porém, microbactérias, esporos e a maioria dos vírus são resistentes a essa substância (HAAPASALO et al., 2005; ATHANASSIADIS et al., 2007), que também não remove a camada de *smear layer*. O ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) é um adjuvante no tratamento do canal radicular com capacidade de remover a camada de matéria inorgânica (*smear layer*) (ARIAZ-MOLIZ, 2009; GRÜNDLING et al., 2011).

No entanto, os microrganismos podem se estabelecer em áreas onde os instrumentos e agentes químicos como o NaOCl ou CHX (FERRAZ et al., 2001), utilizados durante a preparação do canal radicular, não conseguem atuar para eliminá-los (SUNDQVIST et al., 1998; SOUZA et al., 2008), como os canais acessórios (FONSECA et al., 2008), espaços pulpares, istmos e túbulos dentinários (TANOMARU FILHO et al., 2008), os quais podem se tornar fontes residuais e manter infecções persistentes (TIRALI et al., 2009).

O *E. faecalis* é uma bactéria com capacidade de crescimento como um biofilme nas paredes do canal radicular e com facilidade em penetrar no interior dos túbulos dentinários, podendo proliferar na presença ou ausência de oxigênio (NAIR, 1987). Possui, também, uma matriz extrapoli-sacarídea (EPS), que lhe proporciona estabilidade mecânica (KÖRSTGENS et al., 2001) e dificulta a ação de substâncias coadjuvantes à terapia endodôntica (SOUZA et al., 2008; ARIAZ-

MOLIZ, 2010). Ela é capaz de sobreviver por até 10 dias em túbulos dentinários sem uma fonte de nutrientes (SUNDQVIST et al., 1998), bem como de permanecer viável nos canais de raízes obturadas até 12 meses após o tratamento (HAAPASALO & ORSTAVIK, 1987).

Nesse contexto, o uso do laser surge como uma possibilidade alternativa na terapia endodôntica (MARCHESAN et al., 2008; LIM et al., 2009; SOUZA et al., 2010). A terapia fotodinâmica (PDT), sugerida como um complemento ao preparo químico-mecânico (PQM), utiliza a luz de um comprimento de onda específico para ativar um corante atóxico fotoativo (fotossensibilizador), na presença de oxigênio, empregando um laser de baixa intensidade (FONSECA et al., 2008; SOUZA et al., 2010). Estudos utilizando PDT têm demonstrado que essa abordagem possui potencial para maximizar a capacidade de desinfecção do canal radicular (GARCEZ et al., 2010; RIOS et al., 2011).

Diversos pesquisadores já avaliaram os efeitos da irradiação laser de alta potência na desinfecção de dentina radicular e suas possíveis aplicações na endodontia (MARCHESAN et al., 2008; MOURA-NETTO et al., 2008; SOUZA et al., 2008; MOURA-NETTO et al., 2009; DEWSNUP et al., 2010). A energia do laser de alta potência pode ser transmitida no canal da raiz por meio de uma fibra ótica, sendo capaz de alcançar regiões inacessíveis à instrumentação e a substâncias químicas. Assim, alguns sistemas de laser de alta potência foram examinados como adjuntos para desinfecção, como laser de diodo (SOUZA et al., 2008) e laser Er,Cr:YSGG (GORDON et al., 2007; DEWSNUP et al., 2010). Por ser de fácil transporte e uma alternativa mais econômica em relação aos demais lasers de alta potência

(Er,Cr:YSGG; Nd:YAG; CO<sup>2</sup>), o laser de diodo deveria ser testado como uma possibilidade na terapia endodôntica.

## REVISÃO DE LITERATURA

A periodontite apical é uma doença infecciosa causada por microrganismos que colonizam o sistema de canais radiculares (KAKEHASHI et al., 1965; MÖLER et al., 1981). Essa inflamação periapical pode ser causada por qualquer número de bactérias encontradas no sistema de canais radiculares e túbulos dentinários, embora o número real de bactérias viáveis necessárias para esse processo seja desconhecido.

Para melhor resultado do tratamento endodôntico, a população bacteriana dentro do canal radicular deve ser idealmente eliminada, ou pelo menos reduzida de forma significativa a níveis que são compatíveis com a cicatrização dos tecidos perirradiculares (SIQUEIRA JR., 2002).

A desinfecção endodôntica é realizada por um PQM, que constitui uma associação de modelagem e desinfecção do conduto com auxílio de substâncias químicas. Mesmo com as atuais técnicas de instrumentação e os diversos tipos de soluções irrigantes auxiliares, encontra-se muita dificuldade quanto à penetração e à ação nesses sistemas de canais endodônticos, devido às diferentes formas e à resistência dos patógenos presentes (RETAMOZO et al., 2010). O *E. faecalis* é uma bactéria gram-positiva que está associada a infecções persistentes do canal radicular.

## Soluções químicas auxiliares à terapia endodôntica

A microbiota presente nas infecções de canais radiculares é mista, com predominância de bactérias gram-negativas anaeróbias. Agentes antimicrobianos devem suprimir ou destruir o crescimento microbiano. Desse modo, são necessárias a suscetibilidade dos microrganismos, a penetração do agente antimicrobiano no sítio infectado, a adequada concentração do agente, a baixa toxicidade para as células hospedeiras e a falta de desenvolvimento de microrganismos de resistência ao agente (ESTRELA et al., 2002).

Vianna et al. (2004) investigaram *in vitro* a atividade antimicrobiana da CHX gel e líquida nas concentrações de 0,2%, 1% e 2% contra patógenos endodônticos e compararam os resultados em relação àqueles obtidos com NaOCl nas concentrações de 0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5,25%. As espécies de microrganismos utilizadas foram *E. faecalis*, *Candida albicans* (*C. albicans*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Porphyromonas endodontalis* (*P. endodontalis*) e *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*). Um teste de diluição foi realizado e, no momento em que mataram as células microbianas, os tempos dos irrigantes foram gravados e analisados estatisticamente. Tanto a CHX gel quanto a líquida na concentração de 2% eliminaram *S. aureus* e *C. albicans* em 15 segundos (s), ao passo que somente a CHX gel 2% matou *E. faecalis* em 1 minuto (min). Todos os irrigantes testados eliminaram *P. endodontalis*, *P. gingivalis* e *P. intermedia* em 15 s. O tempo exigido para a CHX líquida 1% e 2% eliminar todos os microrganismos foi o mesmo exigido para NaOCl 5,25%. Com isso, os autores puderam concluir que a ação

antimicrobiana está relacionada ao tipo, à concentração e à forma de apresentação dos irrigantes, bem como à suscetibilidade microbiana.

Sena et al. (2006) investigaram a atividade antimicrobiana do NaOCl 2,5% e 5,25% e da CHX 2,0% gel e líquida, como substâncias irrigantes, contra selecionadas espécies de biofilmes. Espécies simples de biofilmes de *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *C. albicans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis* e *Fusobacterium nucleatum* foram geradas em uma membrana de nitrato de celulose e colocadas em Agar. Os biofilmes foram imersos nas substâncias de irrigação por 30 s e, depois, por 5, 10, 15, 30 e 60 min, com e sem agitação mecânica. Uma solução salina estéril foi utilizada no grupo controle. As amostras foram comparadas pelo teste de Tukey e Friedman, quando necessário, a um nível de significância de  $P < 0,05$ . Com agitação mecânica, *C. albicans* e *S. aureus* demoraram 5 min para serem mortas por NaOCl 2,5%, enquanto o *E. faecalis* foi eliminado em 30 s. A *C. albicans* foi a mais resistente entre os microrganismos para clorexidina gel 2%, demorando 30 min para ser totalmente eliminada, seguida por *S. aureus* (15 min) e *E. faecalis* (5 min). Não houve diferença estatisticamente significativa entre NaOCl 5,25%, clorexidina líquida 2,0% e NaOCl 2,5%. A clorexidina gel precisou de mais tempo para eliminar todas as bactérias do que os outros irrigantes, no entanto, foi estatisticamente diferente ( $P < 0,05$ ) do grupo controle (solução salina). Sem agitação mecânica, os autores obtiveram que o *E. faecalis* foi o mais resistente microrganismo ao NaOCl 2,5%, sobrevivendo mesmo depois de 60 min. *S. aureus* também foi muito resistente à clorexidina gel 2%, sendo capaz de matar todas as células dentro de 60 min. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as substâncias antimicrobianas

testadas. Contudo, todas elas foram estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ ) do grupo controle (solução salina). Os autores concluíram, portanto, que a agitação mecânica melhorou as propriedades antimicrobianas das substâncias químicas testadas, favorecendo os agentes na apresentação líquida, especialmente NaOCl 5,25% e clorexidina 2%.

Oliveira et al. (2007) compararam *in vitro* a atividade antimicrobiana da clorexidina gel 2% contra *E. faecalis* com NaOCl em duas concentrações: 1,5% e 5,25%. Para isso, oitenta (80) pré-molares inferiores humanos com canal único foram preparados, autoclavados e infectados por 7 dias com *E. faecalis*. As raízes foram, então, separadas em cinco grupos: G1 – vinte (20) dentes usando CHX gel 2%; G2 – vinte (20) dentes irrigados com NaOCl 1,5%; G3 – vinte (20) dentes irrigados com NaOCl 5,25%; G4 – dez (10) dentes irrigados com água destilada (grupo controle); G5 – dez (10) dentes irrigados com gel natrosol (grupo controle). Para avaliar a ação antimicrobiana das soluções irrigantes, três amostras microbianas foram tomadas: S1 – inicial (antes do preparo biomecânico); S2 – pós-tratamento (imediatamente após o preparo biomecânico) e S3 – final (7 dias após a preparação biomecânica). As amostras microbiológicas foram semeadas para contar as unidades formadoras de colônia (CFU). A CFU imediatamente após a instrumentação mecânica revelou que esta e a irrigação com todas as substâncias testadas reduziram, significativamente, o número de bactérias no canal radicular. As amostras tratadas com água destilada ou gel natrosol também demonstraram redução no número de bactérias. Uma análise de variância não paramétrica evidenciou que não houve diferenças entre os grupos 1, 2 e 3. Na cultura final, a menor contagem de CFU para *E. faecalis* foi por espécimes de NaOCl 5,25% e CHX gel

2%, sem diferença estatística. No entanto, as amostras tratadas com NaOCl 1,5% tiveram um aumento na UFC contados 7 dias após a instrumentação, não havendo diferença estatística quanto ao grupo controle. A clorexidina gel 2% e o hipoclorito de sódio 5,25% foram eficazes na eliminação de *E. faecalis* até 7 dias após a instrumentação; além disso, ficou evidenciado que, quanto maior a concentração de hipoclorito de sódio, melhor sua ação antimicrobiana.

Dogan Buzoglu et al. (2007) avaliaram o efeito do uso isolado e combinado de EDTA, RC-Prep e NaOCl na energia livre de superfície da parede dentinária do canal radicular. Dezoito (18) pré-molares humanos extraídos foram seccionados na coroa e no terço apical, e a porção média das raízes foi seccionada ao meio, longitudinalmente, e, então, incluída em blocos de resina, expondo a superfície da parede do canal. As amostras foram divididas, aleatoriamente, em seis grupos experimentais: Grupo 1 – foram imersos em 10 ml de EDTA 17% por 15 min, seguido de irrigação com NaOCl 2,5%; Grupo 2 – foram tratados com RC-Prep por 15 min, seguido de irrigação com NaOCl 2,5% por 15 min; Grupo 3 – imersos em 10 ml de EDTA 17% por 15 min e lavados com 10 ml de solução salina; Grupo 4 – tratados com RC-Prep por 15 min, seguido de lavagem com 10 ml de solução salina; Grupo 5 – irrigados com 10 ml de NaOCl 2,5%; Grupo 6 – grupo controle, irrigados com 10 ml de solução salina. A energia livre de superfície dos grupos experimentais foi calculada medindo os ângulos de contato. O uso combinado ou sozinho de EDTA, RC-Prep e NaOCl diminuiu significativamente a energia livre da superfície dentinária da parede do canal em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ). Em todos os grupos testados com o uso de RC-Pre e irrigação final de NaOCl, ocorreu o

aumento na molhabilidade, mas esse valor permaneceu inferior ao grupo controle. Os autores concluíram, assim, que ambos os agentes quelantes isolados ou em combinação com NaOCl diminuíram a molhabilidade da superfície da dentina, quando comparados com o grupo controle.

Siqueira et al. (2007) compararam a eficácia do NaOCl 2,5% e do gluconato de clorexidina a 0,12% como soluções irrigantes na redução das populações bacterianas cultiváveis em canais radiculares infectados de dentes com periodontite apical. Trinta e quatro (34) dentes unirradiculares, com único canal, foram selecionados com base na inclusão e exclusão de critérios. Apenas foram incluídos nesse estudo dentes com paredes da câmara pulpar intacta, necrose pulpar confirmada pela resposta negativa aos testes de sensibilidade e evidência clínica e radiográfica de lesões crônicas de periodontite apical. O tamanho das lesões da periodontite apical variou de 2 x 3 mm a 12 x 15 mm. Dentes com diferentes tamanhos de lesão foram distribuídos, uniformemente, entre os dois grupos experimentais. Foram excluídos do estudo dentes de pacientes que receberam terapia antibiótica nos três meses anteriores, com lesões de cárie bruta, com fratura da raiz ou coroa, que receberam tratamento endodôntico prévio e os casos mostrando bolsa periodontal com mais de 4 mm de profundidade. Foram utilizados trinta e dois (32) dentes, e amostras bacterianas foram colhidas no início do estudo (S1) e após o preparo biomecânico utilizando o hipoclorito de sódio (n=16) ou clorexidina (n=16) (S2). Os resultados mostraram que, no S1, todos os canais foram positivos para as bactérias, e o número médio de bactérias por canal foi de  $7,32 \times 10^5$  para o grupo do NaOCl e  $8,5 \times 10^5$  para a solução de clorexidina. Após o preparo biomecânico (S2), o número médio de bactérias em canais irrigados com NaOCl e clorexidina foi de

2,35 x 10<sup>3</sup> e 2 x 10<sup>2</sup>, respectivamente. Seis dos 16 (37,5%) canais do grupo NaOCl e oito (50%) dos canais do grupo clorexidina resultaram culturas negativas pós-instrumentação (S2). O PQM utilizando uma solução reduziu o número de bactérias cultiváveis nos canais. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos NaOCl e clorexidina em relação ao número de casos contendo culturas negativas. Os grupos irrigados com NaOCl ou clorexidina, substancialmente, mostraram uma média de 1,3 e 1,9 espécies cultiváveis por canal, respectivamente. Quando comparadas com S1, amostras do grupo S2 revelaram redução no número de bactérias que vão de 49,54% a 100%, para canais tratados com hipoclorito de sódio, e de 30,82% a 100%, nos canais tratados com clorexidina. As bactérias isoladas em S2, em sua maioria, foram gram-positivas, sendo o *Streptococos* o mais prevalente. Os autores concluíram que não houve diferença significativa quando compararam os efeitos antibacterianos de NaOCl 2,5% e clorexidina 0,12%, utilizados como irrigantes durante o tratamento de canais infectados, evidenciando, porém, que nenhuma das substâncias auxiliares foi capaz de esterilizar os condutos.

Se as bactérias persistem após PQM, complementado ou não com uma medicação intracanal, há um risco aumentado de resultado adverso do tratamento endodôntico. Portanto, presença bacteriana no canal, no momento da obturação, tem se evidenciado um fator de risco para periodontite apical pós-tratamento. Cerca de cem (100) espécies já foram detectadas em pós-instrumentação e pós-medicação, sendo as bactérias gram-positivas as mais dominantes. As bactérias persistentes podem sobreviver em canais tratados e são capazes de induzir ou manter a inflamação do tecido perirradicular. Idealmente, os procedimentos de

tratamento endodôntico devem esterilizar o canal da raiz, ou seja, eliminar todos os microrganismos presentes em todo o sistema de canais radiculares. No entanto, levando em consideração a complexa anatomia do sistema, é amplamente reconhecido que, com os instrumentos, substâncias e técnicas disponíveis para cumprir esse objetivo, a redução microbiana se torna bastante viável. A resistência do hospedeiro é outro fator importante sobre os impactos na patogênese da doença. A mesma combinação de espécies bacterianas no mesmo canal pode dar origem a diferentes respostas em diferentes indivíduos. Portanto, o objetivo é reduzir a população bacteriana a um nível inferior ao necessário para induzir ou manter a doença, ou seja, o tratamento bem-sucedido não é, necessariamente, a esterilização do canal radicular, mas a redução da população bacteriana a níveis subcríticos compatíveis com a cura (SIQUEIRA JR. & RÔÇAS, 2008).

Tanomaru Filho et al. (2008) avaliaram a distribuição microbiana no sistema de canais radiculares após indução de lesões periapicais em dentes de cães, recorrendo a diferentes métodos. Utilizaram cinquenta e dois (52) canais radiculares que foram divididos em quatro grupos (n=13). Nos grupos 1 e 2, os canais radiculares foram expostos à cavidade oral por 180 dias. Nos grupos 3 e 4, os canais radiculares foram expostos por 7 dias, e, após, as aberturas coronárias foram seladas por 53 dias. Nos grupos 1 e 3, após a abertura coronária e pulpectomia, a raiz do dente apical foi perfurada com tamanhos sequenciais de limas 20, 25 e 30 K até o comprimento total da raiz, a fim de criar uma abertura padronizada apical, enquanto os grupos 2 e 4 foram mantidos intactos. Encerrados os períodos experimentais, os animais foram sacrificados, e as peças anatômicas contendo as raízes foram processadas e coradas com

método de Brown & Brenn, para análise histomicrobiológica. A presença e a distribuição dos microrganismos foram verificadas por microscopia ótica. Os autores relataram que todos os grupos apresentaram microrganismos em todo o sistema de canais radiculares. Também, o maior número de microrganismos foi observado nas paredes do canal radicular, delta apical e túbulos dentinários ( $P < 0,05$ ), seguido pelo cimento e por áreas de reabsorção cementária. Esse estudo mostrou a formação de biofilme após um intervalo de tempo relativamente curto (60 dias) para a indução de lesões periapicais. Como resultado, obteve-se um padrão de infecção endodôntica compatível com os observados em dentes com lesões periapicais, ou seja, uma divulgação intensa microbiana em todo o sistema de canais radiculares, incluindo ramificações do delta apical e na região do cimento apical. Com isso, é possível acreditar que o tratamento endodôntico de dentes com reação periapical crônica tenha um prognóstico mais desfavorável e uma taxa de sucesso menor, devido à microbiota envolvida e à sua difusão no âmbito do sistema de canais radiculares e cimento apical.

Vianna & Gomes (2009) investigaram *in vitro* a eficácia da combinação de NaOCl e CHX em diferentes concentrações contra *E. faecalis* em comparação com a atividade antimicrobiana das mesmas substâncias, quando aplicadas sozinhas. As substâncias testadas foram CHX gel 2%, CHX líquida 2%, NaOCl 1%, NaOCl 2,5%, NaOCl 5,25% e combinações destas nas mesmas concentrações. Para o grupo controle, duas soluções foram utilizadas: natrosol e salina. Os testes foram feitos com base em dois métodos de cultura: o de difusão em Agar e o de contato direto. Foram analisados, estatisticamente, pelo teste Kruskal-Wallis e teste Dunn. Independentemente da concentração de NaOCl

utilizada, a sua associação com a CHX deu origem à formação de uma zona marrom no canal radicular. Ambas as substâncias, NaOCl e CHX, inibiram o crescimento e mataram a *E. faecalis*. No método de difusão em Agar, a CHX gel 2% sozinha mostrou a mais forte ação antimicrobiana e a maior inibição de crescimento em 1 min. A menor ação antimicrobiana foi obtida por NaOCl 1% sozinho e NaOCl 2,5%, também sozinho, demorando 5 min e 3 min, respectivamente, para a inibição. Pelo método do contato direto, o menor tempo para a inibição de 100% de *E. faecalis* foi de 30 s, obtidos por NaOCl 5,25% e CHX gel 2% sozinhos, assim como pela combinação entre os dois. No entanto, não houve diferença significativa entre CHX gel 2%, CHX gel 2% combinada com NaOCl 2,5% e CHX líquida 2% combinada com NaOCl 5,25%, em que o tempo necessário para inibir o *E. faecalis* foi de 1 min. Os autores concluíram que a associação do NaOCl e da CHX não melhorou a atividade antimicrobiana da CHX sozinha.

Gomes et al. (2009) realizaram um estudo clínico para comparar a eficácia do preparo biomecânico com o NaOCl 2,5% e CHX gel a 2% para eliminar o LPS em dentes com necrose pulpar e periodontite apical. As substâncias foram preparadas 24 horas (h) antes do início do experimento, sempre em pequenas porções. Para isso, os pesquisadores utilizaram cinquenta e quatro (54) canais radiculares previamente escolhidos. Os dentes selecionados (um dente por paciente) foram unirradiculares, contendo um único canal, e a câmara pulpar não estava em comunicação visual com o fluido oral. Eles apresentavam tecido de necrose pulpar e evidência radiográfica de lesões periapicais, porém ausência de doença periodontal. Nenhum dos pacientes relatou dor espontânea. Uma história dental detalhada de cada paciente foi obtida.

Os pacientes que receberam tratamento com antibióticos durante os últimos três meses ou que tiveram doença em geral foram excluídos da pesquisa. A câmara pulpar foi exaustivamente lavada com as substâncias, conforme cada grupo. As amostras foram colhidas antes (S1) e após o PQM (S2). Os dentes foram divididos, aleatoriamente, em dois grupos: GI – hipoclorito de sódio 2,5% (n=27) e GII – CHX gel (n=27). Ensaio com amebócitos foi utilizado para quantificar endotoxinas, as quais estavam presentes em 100% das amostras investigadas, com um valor médio de duzentas e setenta e duas (272) unidades de endotoxina (UE)/ml (GI) e 152,46 UE/ml (GII). Como resultado do PQM, o conteúdo de LPS foi reduzido para uma média de valor de 86 UE/ml (GI) e 85 UE/ml (GII). Maior valor percentual de redução de endotoxina foi encontrado em GI ( $P < 0,05$ ). Os autores concluíram que o NaOCl 2,5% e o gel de CHX 2% não foram eficazes na eliminação de endotoxinas dos canais radiculares infectados. Em geral, a remoção de detritos ao longo do PQM e a quantidade de alargamento do canal radicular parecem desempenhar um papel importante na redução de LPS oral bacteriano durante o tratamento endodôntico.

Tirali et al. (2009) avaliaram e compararam *in vitro* a eficácia do hipoclorito de sódio e do cloridrato de octenidine (Octenisept) em diferentes concentrações na eliminação de microrganismos resistentes, incluindo *S. aureus*, *E. faecalis* e *C. albicans*, em diferentes intervalos de tempo. As concentrações de hipoclorito de sódio foram de 0,5%, 2,5%, 5,25%; já o Octenisept teve concentrações de 1%, 10%, 50% e 100%. Os microrganismos foram deixados em contato com os desinfetantes, em todas as concentrações, nos seguintes intervalos de tempo: 15, 30 e 45

segundos; 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30 e 60 minutos; 24, 48 e 72 horas. Os autores obtiveram como resultados que o NaOCl 0,5% não inibiu o crescimento dos microrganismos testados em nenhum dos intervalos de tempo. Octenisept 50% e 100% eliminaram todos os microrganismos testados em apenas 15 s. A atividade antimicrobiana *in vitro* mais eficaz dos irrigantes testados foi, em ordem decrescente: 100% Octenisept, 50% Octenisept, 5,25% e 2,5% NaOCl. A resistência microbiana para todas as soluções testadas apresentou uma variação entre os microrganismos envolvidos, mas essa diferença não foi significativa ( $P < 0,05$ ). Os resultados desse estudo indicam que 100% e 50% de cloridrato de octenidine são mais eficazes do que 5,25% de solução de hipoclorito de sódio como irrigante antimicrobiano endodôntico. Os autores constataram que houve uma diferença significativa entre as soluções em termos de produção de culturas negativas para os microrganismos testados. Segundo os resultados do estudo, parece razoável supor que Octenisept poderia ser eficaz, mas a atividade antimicrobiana não é o único critério de escolha de um irrigante endodôntico. No entanto, o hipoclorito de sódio possui outro atributo muito importante que o Octenisept não traz: a capacidade de dissolver tecido orgânico.

Ariaz-Moliz et al. (2009a) avaliaram *in vitro* a concentração do NaOCl, da CHX, do ácido cítrico e do ácido fosfórico para a erradicação de biofilme de *E. faecalis* após 1, 5, e 10 min. As concentrações iniciais dos irrigantes testados foram 0,1% de NaOCl, 4% de CHX, 17% de EDTA, 25% de ácido cítrico e 5% de ácido fosfórico. Dez (10) diluições duplas foram feitas para cada solução em água destilada estéril. Elas foram armazenadas em temperatura ambiente até serem usadas. Os

biofilmes *E. faecalis* (ATCC 29212) foram cultivados em um dispositivo MBEC de alto rendimento por 24 h a 37°C. Cada ensaio foi realizado duas vezes em três ocasiões, para um total de seis repetições por irrigante e tempo de exposição. A contagem das células viáveis foram transformadas em unidades logarítmicas (log 10), e uma concentração de irrigante foi considerada para erradicar biofilmes quando se produziu uma redução de log 5. O hipoclorito de sódio foi o agente mais eficaz, capaz de erradicar os biofilmes após 1 min em uma concentração de 0,00625%. A CHX erradicou o biofilme após 5 min em 2%. EDTA, ácido cítrico e soluções de ácido fosfórico não foram eficazes contra os biofilmes em qualquer concentração ou tempo de teste.

Arias-Moliz et al. (2010) avaliaram a eficácia de cetrimida e clorexidina, isoladamente e em associação, na erradicação de biofilmes de *E. faecalis*, por meio de ensaios com diferentes tempos de exposição. A cetrimida (não utilizada em endodontia) é um agente microbiano potente (tensoativo catiônico) com capacidade de diminuir a estabilidade mecânica do biofilme; já a clorexidina é um potente agente microbiano com substantividade. Os autores definiram a erradicação do biofilme quando houve 100% de sua eliminação. Os biofilmes de *E. faecalis* foram cultivados por 24 h a 37°C no aparelho MBEC High-Throughput, formando biofilmes na tampa do dispositivo. A concentração de clorexidina variou de 4% a 0,0078%, e de cetrimida, de 1% a 0,0019%. Os contatos das soluções foram de 30 s, 1 min e 2 min, e, na forma alternada, metade do tempo foi utilizada para cada solução, realizando cinco repetições por irrigante e tempo de exposição. Os autores obtiveram como resultados a erradicação do biofilme de *E. faecalis*, quando utilizada a cetrimida nas seguintes concentrações e tempos de

exposição: 0,5% em 30 s; 0,0312% em 1 min; 0,0078% em 2 min. Por sua vez, a clorexidina não foi capaz de erradicar o biofilme em nenhuma das concentrações testadas. Os autores concluíram que o uso associado de cetrimida e clorexidina pode fornecer melhores resultados do que as suas aplicações como agentes únicos. Da mesma forma, verificaram que a aplicação alternada revela-se mais eficaz do que o modo de aplicação combinado.

Retamozo et al. (2010) realizaram um estudo para determinar a concentração de hipoclorito de sódio e o tempo de irrigação necessários para desinfetar cilindros de dentina infectados com *E. faecalis*. Utilizaram quatrocentos e cinquenta (450) cilindros de dentina de 5 mm de diâmetro por 4 mm de altura preparados a partir de incisivos bovinos recém-extraídos. O cimento e a pré-dentina foram removidos, e os túbulos dentinários foram abertos usando um aplicativo de 4 min com 17% de EDTA e 5,25% de hipoclorito de sódio, os quais, em seguida, foram expostos a *E. faecalis* (ATCC 4082) durante três semanas em um caldo específico. Os cilindros foram divididos em três grupos, de 1,3%, 2,5%, ou 5,25% de concentração de NaOCl. Cada concentração de hipoclorito de sódio foi aplicada em 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 minutos para um total de trinta subgrupos, incluindo controles positivo e negativo. Cada amostra foi colocada em um tubo de 2 ml de caldo específico e incubada por 72 h. A ausência de turbidez não demonstrava nenhum crescimento bacteriano, enquanto a turbidez indicava a presença de bactérias remanescentes viáveis. Os autores obtiveram o seguinte resultado: a irrigação mais eficaz foi de 5,25% em 40 min; ao passo que a irrigação com 1,3% de NaOCl a 2,5% para esse mesmo intervalo de tempo foi ineficaz na eliminação de *E. faecalis* em cilindros de dentina

infectada. A irrigação com 5,25% de NaOCl por 40 min foi o único regime capaz de eliminar completamente a bactéria em foco. Com base nesse estudo, os autores concluíram que altas concentrações e exposição prolongada ao NaOCl são necessárias para a eliminação de *E. faecalis* em dentina contaminada.

Gründling et al. (2011) avaliaram *in vitro* o efeito da agitação do NaOCl e do EDTA com um ultrassom na raiz de dentes bovinos infectados com *E. faecalis*. Para isso, oitenta e quatro (84) incisivos bovinos foram cortados até ficarem com 15 mm de comprimento, instrumentados e inoculados com *E. faecalis* por 50 dias para a formação do biofilme. Os dentes foram, então, divididos em quatro grupos: Grupo 1 – grupo controle – as amostras foram preenchidas com solução salina esterilizada e agitação manual com uma lima por 15 s; Grupo 2 – ultrassom e água destilada; Grupo 3 – irrigação convencional com NaOCl 2% e EDTA com agitação manual com uma lima por 15 s; Grupo 4 – irrigação com NaOCl 2% e EDTA com ultrassom. Testes microbiológicos e análises foram realizadas com microscopia eletrônica de varredura (MEV). Houve diferença significativa entre o grupo 1 e o grupo 2 e destes para os grupos usando NaOCl. Em análises microbiológicas, os grupos usando NaOCl não apresentaram crescimento bacteriano. Em análise de MEV, na parede do canal, não houve diferenças significativas entre os grupos usando NaOCl. No entanto, houve diferenças significativas entre esses grupos e o grupo controle em todos os terços. Houve, também, uma diferença significativa entre o grupo 2 na região apical e terço médio e os grupos utilizando NaOCl. Os autores concluíram que o ultrassom pode auxiliar na limpeza do canal,

mas o papel principal na eliminação de bactérias é realizado pelo irrigante.

Dornelles-Morgental et al. (2011) realizaram um estudo comparando a eficácia antibacteriana de soluções irrigadoras e suas combinações contra *E. faecalis*. Cento e dez (110) raízes de dentes humanos unirradiculares foram inoculadas com *E. faecalis* e incubadas por 21 dias. As raízes foram divididas nos seguintes grupos: G1 – hipoclorito de sódio 2,5%; G2 – hipoclorito de sódio 2,5% + ácido cítrico 10%; G3 – hipoclorito de sódio 2,5% + vinagre de maçã; G4 – *apple cider vinegar*; G5 – solução de clorexidina 2%; G6 – ácido peracético 1%; G7 – solução salina. Amostras microbiológicas foram tomadas após o preparo do canal e, novamente, após 7 dias. Todas as soluções promoveram redução do *E. faecalis* após a instrumentação, porém a contagem bacteriana nas amostras finais foram menores nos grupos 1, 5 e 6. O estudo demonstrou atividade antibacteriana semelhante para o hipoclorito de sódio 2,5% e a clorexidina 2%.

### **Laser de baixa intensidade**

Um método alternativo para a desinfecção dos canais radiculares é o uso da terapia fotodinâmica (PDT). A PDT baseia-se na associação de agentes fotossensibilizantes de luz no espectro visível para promover a morte das células. A radiação laser é usada para ativar um corante que é aplicado ao alvo, cuja sensibilização ocorre de duas maneiras distintas: por meio de um sistema de redox, que promove uma resposta citotóxica e gera radicais livres com morte celular após a interação com o meio, ou através de liberação de energia que transforma o oxigênio molecular em

oxigênio único, que é citotóxico para microrganismos. A PDT é um método terapêutico complementar que poderia ser usado para eliminar bactérias remanescentes. É um processo em que a irradiação de corante aplicado ao organismo alvo resulta na morte de bactérias.

Gordon et al. (2007) investigaram *in vitro* a capacidade do laser Er,Cr:YSGG na desinfecção de dentina infectada por *E. faecalis*. Após a esterilização das raízes, os autores inocularam cilindros de dentina com *E. faecalis* em canais radiculares. Para tanto, utilizaram luz laser com potência que variou de 25 mW e 20 Hz até 350 mW, num tempo que variou de 15 a 240 s. Uma fibra de 200 µm foi utilizada para aplicar a luz laser intracanal. A recuperação bacteriana diminuiu com o aumento da potência e do tempo de irradiação. Valores maiores de desinfecção foram alcançados, utilizando o tempo de 120 s de aplicação da luz laser em relação ao tratamento somente com hipoclorito de sódio. Houve redução de até 99,7% na contagem de bactérias quando foi utilizado o laser. O laser Er,Cr:YSGG oferece efeito antimicrobiano significativo sobre túbulos dentinários contaminados com *E. faecalis* podendo ser uma valiosa ferramenta para desinfecção de canais radiculares durante o tratamento endodôntico.

Fonseca et al. (2008) investigam *in vitro* os efeitos da PDT sobre patógenos em endodontia, por meio da avaliação da diminuição no número de colônias de *E. faecalis* nos canais de dentes humanos extraídos. Quarenta e seis (46) dentes humanos unirradiculares com comprimento médio de 21 mm foram acessados e os canais explorados, usando lima 10 K file. O comprimento de trabalho foi determinado, subtraindo-se 1 mm do comprimento da lima no momento em que a ponta do instrumento foi vista no forame apical. Os dentes foram

instrumentados até atingir o tamanho 50 K (batente) e toda a instrumentação, e irrigação com 3 ml de hipoclorito de sódio 0,5% foi realizada entre as limas. No final do preparo do canal radicular, os dentes foram irrigados com 1,8 ml de EDTA a 17%, seguidos por 10 ml de hipoclorito de sódio a 0,5%. Os canais foram secados com pontas de papel, e as raízes foram, então, revestidas com resina acrílica termicamente ativada, a fim de protegê-las da contaminação externa. Os 46 dentes foram divididos em dois grupos de 23: grupo controle (GC) e grupo teste (GT). Todos os canais foram preenchidos com 10 ml de ATCC 29212, suspensão de *E. faecalis* BHI médio, utilizando uma pipeta automática. Os dentes foram colocados em câmaras semicobertas úmidas e incubadas a 35°C por 48 h. O GC não recebeu nenhum tratamento PDT, e os dentes foram incubados por 48 h. Enquanto isso, no GT, os canais foram preenchidos com uma solução aquosa de azul de toluidina (TB) a 0,0125%, que foi mantido dentro dos canais radiculares por 5min. Os canais foram lavados com solução salina estéril 9%. Após, os pesquisadores aplicaram luz laser de diodo com comprimento de onda de 660 nm, com potência de 50 mW na ponta do aparelho e com emissão de luz contínua. O laser tinha ponteira de fibra ótica com um diâmetro de 600 µm, a qual ótica forneceu uma fluência de energia de 400 J/cm<sup>2</sup>, de modo que a energia depositada foi de 6,4 J, conforme a função PDT do aparelho. O método de irradiação envolveu movimentos helicoidais de tração da fibra, de apical para cervical, com duração de 320 s. Amostras bacterianas foram colhidas antes e após a terapia do GT, e antes e após 48 h de incubação do GC. Depois disso, uma ponta de papel 50 foi inserida no canal por 20 s. O resultado obtido nesse estudo foi de uma redução média de UFC 99,9% no GT, ao passo que, no GC, um aumento

de 2,6% foi observado. Os autores concluíram que a PDT foi efetiva como agente bactericida em *E. faecalis* em canais radiculares contaminados, sendo viável como agente bactericida, embora não elimine totalmente as bactérias contaminantes.

Lim et al. (2009) realizaram um estudo *in vitro*, utilizando laser de diodo com comprimento de onda de 664 nm e potência de 30 mW, bem como uma formulação de fotossensibilizador de azul de metileno (MB) dissolvido em água e uma mistura de glicerina com etanol e água, para sensibilizar amostras contaminadas com *E. faecalis* em dois estágios diferentes de maturação. Oitenta e cinco (85) dentes foram preparados e inoculados com os microrganismos. A solução de escolha foi o hipoclorito de sódio a 5,25%. Relataram como resultado que o hipoclorito de sódio em associação com desinfecção ativada por luz (LAD) mostrou significativa capacidade de inativar bactérias de biofilmes de 4 dias de maturação, quando comparados ao grupo controle e LAD sozinho ( $P < 0,05$ ). Inativação de bactérias na dentina profunda foi maior em LAD do que com o hipoclorito de sódio. Em biofilmes de 4 semanas de idade, uma combinação de desinfecção químico-mecânica com LAD produziu efeito bactericida significativo em comparação com qualquer desinfecção químico-mecânica ou LAD sozinho. Os autores concluíram e destacaram o potencial da LAD para eliminar as bactérias dentro dos túbulos dentinários. Em combinação com o preparo biomecânico, a LAD melhorou consideravelmente a inativação do biofilme de 4 semanas de idade.

Souza et al. (2010) empreenderam um estudo *in vitro* com a finalidade de investigar os efeitos antibacterianos da PDT com MB (azul de metileno) ou azul de toluidina (ambos com 15 mg/ml) como um

suplemento para instrumentação e irrigação de canais radiculares contaminados experimentalmente com *E. faecalis*. Para isso, utilizaram setenta (70) dentes extraídos, os quais, após instrumentação do canal principal e consequente esterilização dos dentes em autoclave a 121°C durante 15 min, tiveram os canais radiculares contaminados com uma cepa de *E. faecalis*, por 7 dias, a uma temperatura de 37°C. A seguir, os dentes foram preparados com auxílio de limas de níquel-titânio e irrigados com hipoclorito de sódio 2,5% ou com cloreto de sódio (NaCl) 0,85% e, mais tarde, distribuídos, aleatoriamente, em quatro grupos experimentais: MB/NaOCl (PDT com MB e NaOCl como irrigante); TB/NaOCl (PDT com TB e NaOCl como irrigante); MB/NaCl (PDT MB e com NaCl como irrigante) e TB/NaCl (PDT com TB e NaCl como irrigante). Para PDT, o fotossensibilizador permaneceu no canal por 2 min antes da exposição da luz vermelha emitida por um laser de diodo, com comprimento de onda de 660 nm e 40 mW de potência, utilizando um fibra ótica de 300 µm, na extensão do comprimento de trabalho, com movimentos em espiral durante 4 min. As amostras foram colhidas nos condutos, utilizando cones de papel esterilizado, antes e depois da irrigação e instrumentação. Os autores verificaram que, independentemente do irrigante utilizado (NaOCl ou NaCl), a instrumentação reduziu, de modo significativo, a contagem bacteriana em comparação ao valor basal ( $P < 0,001$ ). NaOCl como irrigante foi significativamente mais eficaz do que o NaCl, e essa diferença persistiu após PDT, independentemente do fotossensibilizador utilizado ( $P < 0,05$ ). A PDT, quer com MB, quer com TB, não aumentou significativamente a desinfecção após o PQM com hipoclorito de sódio como irrigante ( $P > 0,05$ ). Nenhuma diferença significativa foi observada entre os dois

fotossensibilizadores ( $P > 0,05$ ). Concluíram, portanto, que *in vitro* a PDT com qualquer um dos fotossensibilizadores utilizados (MB ou TB) não exerce efeito significativo para complementar procedimentos de irrigação e instrumentação em relação à desinfecção intracanal.

### **Laser de alta potência**

Um dos desafios mais importantes do laser na odontologia é o controle da produção de calor que se dá por diferentes estratégias de procedimentos técnicos e odontológicos. Dependendo do tipo de laser e do processo por meio do qual é realizado o tratamento do canal, há um aumento da temperatura entre 10,3 e 14,4°C. Em uma situação *in vitro*, isso corresponderia a uma temperatura de 47,3 – 51,4°C, que está desconfortavelmente próxima a uma temperatura de 47 – 50°C, a qual tem sido relatada como perigosa para o tecido ósseo. A temperatura máxima aceitável é de 53°C, pois temperaturas mais altas resultam em necrose do osso. O tecido ósseo é mais suscetível à lesão térmica do que o ligamento periodontal, devido ao seu baixo grau de vascularização. Em razão de possíveis danos térmicos, a temperatura na superfície radicular deve ser conhecida antes de qualquer tratamento com laser. As investigações mais confiáveis recomendam que a temperatura na superfície radicular, durante diferentes procedimentos endodônticos, não deve ultrapassar 7°C. Esse nível é, via de regra, considerado como a mais alta temperatura biologicamente aceita para evitar dano periodontal.

Gutknecht et al. (1996a), em um estudo *in vitro*, prepararam e preencheram quarenta (40) dentes com *E. faecalis*, obtendo 99,91% de redução microbiana após irradiação com laser de Nd:YAG. Em vista

desses resultados, afirmaram que o laser tem um efeito bactericida, que pode ser alcançado, também, em estudos clínicos.

Gutknecht et al. (2005) realizaram, ainda, um estudo *in vitro* com o objetivo de encontrar o protocolo de tempo de irradiação do laser de diodo 810 nm eficaz para impedir o aumento da temperatura na superfície da raiz. Utilizaram cinquenta (50) dentes unirradiculares humanos, que foram ampliados até uma lima tamanho # 50 na sua porção apical. A irradiação laser foi realizada com seis configurações diferentes. As amostras foram irradiadas da seguinte forma: (G1) – 3 W, 10 ms PL e 10 ms intervalo de duração (ID); (G2) – 3 W, modo contínuo (CW); (G3) – 4 W, PL 10 e ID 10 ms; (G4) – 4 W, PL 20 e ID 10 ms; (G5) – 4 W, PL 20 and ID 20 ms; (G6) – 4 W em (CW). O tempo total de irradiação foi de 5 a 20 s por canal. Após o tratamento a laser, a temperatura na superfície radicular externa foi registrada por meio de sensores NiCr-Ni de medição de temperatura. Os autores relataram que é necessário medir a energia de saída e densidade de energia do feixe laser em todas as investigações semelhantes, porque os diferentes instrumentos mostram eficiências diferentes. Nesse estudo, concluiu-se que a potência de saída da fibra foi de 0,6 e 1,0 W, e de 1,0 e 1,5 W quando o instrumento foi fixado em 3 W e 4 W de potência definida respectivamente. Com base na condição do presente estudo, o laser de diodo 810 nm, na aplicação em canais radiculares, não vai aumentar a temperatura do tecido circundante mais do que o limiar de 7°C. Segundo a mesma investigação, qualquer irradiação do laser de diodo na superfície radicular interna, depois de 5 s de tempo de exposição, com 5 s de tempo de repouso, deve ser considerada para evitar aumento de temperatura superior ao limite de segurança. Em outras palavras, quando

o tempo total de irradiação é de 20 s, este deve ser dividido em quatro etapas de 5 s de irradiação e três etapas de 5 s de pausa.

Souza et al. (2008) avaliaram o grau de desinfecção da dentina, usando laser de diodo após procedimentos biomecânicos. Na realização do experimento, trinta (30) dentes foram seccionados e suas raízes, autoclavadas e incubadas com suspensão de *E. faecalis* por 4 semanas. As amostras foram randomizadamente divididas em três grupos (n=10): Grupo 1 – as raízes foram instrumentadas com sistema rotatório, com auxílio de endo PTC, irrigadas com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e EDTA-T a 17%, e irradiadas com laser de diodo com comprimento de onda de 830 nm, com potência de 3 W; Grupo 2 – as raízes passaram pelo mesmo procedimento que as do Grupo 1, mas sem a irradiação com laser; e Grupo 3 – as raízes foram irrigadas somente com solução salina (grupo controle). Amostras de dentina de cada terço da raiz foram coletadas, utilizando brocas carbide, e, posteriormente, contadas as UFC para submeter os resultados ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. O grau de desinfecção encontrado nas amostras do Grupo 1 foi de 100%, e nas amostras do Grupo 2, de 98,39%, quando comparado com as amostras do Grupo 3 (controle), o que lhes permitiu concluir que a irradiação do laser de diodo proporciona aumento da desinfecção na dentina radicular profunda com os parâmetros e as amostras utilizadas no estudo.

Marchesan et al. (2008) investigaram em MEV as alterações morfológicas e ultraestruturais na superfície da dentina radicular após irradiação com laser de diodo de 980 nm, utilizando diferentes parâmetros e ângulos de incidência. Setenta e dois (72) caninos tiveram sua coroas seccionadas, sendo o comprimento radicular padronizado em

17 mm. Os canais foram preparados com instrumentos rotatórios K3, e irrigados com 2 ml de água destilada entre as limas. No final, a irrigação foi realizada com 10 ml de água destilada. Os dentes foram divididos, aleatoriamente, em cinco grupos (n=8 cada), de acordo com os parâmetros do laser de diodo: Grupo 1 – sem irradiação (controle); Grupo 2 – 1,5 W/onda contínua (CW); Grupo 3 – 1,5 W/100 Hz e emissão de ondas pulsadas; Grupo 4 – 3 W/CW; e Grupo 5 – 3 W/100 Hz. A luz laser foi aplicada com movimentos helicoidais (paralela às paredes do canal) por 20 s, com uma ponta de fibra ótica de 200 µm de diâmetro. Oito (8) dentes adicionais para cada grupo foram preparados endodonticamente e divididos longitudinalmente. A irradiação foi aplicada perpendicularmente à superfície radicular, em uma distância de 1 mm, utilizando os mesmos parâmetros descritos acima, por 20 s. Esse ângulo de aplicação foi escolhido para mostrar o efeito máximo desse comprimento de onda em dentina radicular. O sistema escolhido de laser foi o Sirolaser 2.2. Os resultados mostram que, quando a energia do laser de diodo de 980 nm foi aplicada paralelamente às paredes do canal radicular, as mudanças induzidas variaram nos aspectos morfológicos, de acordo com os parâmetros do laser utilizado. Nenhuma mudança significativa foi vista com 1,5 W/100 Hz; já a camada de matriz orgânica amorfa deixou visíveis os túbulos com 1,5 W/CW e 3 W/100 Hz, e esparsas formações tipo lava de vulcão com túbulos abertos foram observadas com 3 W/CW. A análise estatística mostrou não haver diferença entre os terços do canal radicular irradiados com o laser de diodo de 980 nm, e resultados semelhantes foram observados com os parâmetros de 1,5 W/CW e 3 W/100 Hz ( $P>0,05$ ). Concluíram os autores, portanto, que a irradiação do laser de diodo de 980 nm na

dentina do canal radicular induziu mudanças morfológicas semelhantes quando usaram, como parâmetro, 1,5 W/CW e 3 W/100 Hz.

Alfredo et al. (2008) avaliaram a adesão dos cimentos endodônticos AH Plus e Epiphany à dentina de canais radiculares humanos submetidos à irradiação com laser de diodo de 980 nm, com diferentes parâmetros de potência (1,5 e 3 W), frequência contínua (CW) e 100 Hz, usando o teste de “push out”. Sessenta (60) raízes de caninos foram seccionadas abaixo da junção amelocementária, e as amostras foram divididas em cinco grupos (n=12): grupo controle (sem laser) e quatro grupos experimentais submetidos à irradiação com laser de diodo de 980 nm com diferentes potências (1,5 e 3 W), frequência contínua e 100 Hz. G1 – sem Laser; G2 – AH plus/laser 1,5 W; G3 – AH plus/laser 3,0 W; G4 – Epiphany/laser 1,5%; G5- Epiphany/laser 3,0 W. O teste de “push out” foi realizado e os dados (MPa) foram analisados, estatisticamente, por meio da análise de variância e teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). As amostras foram divididas longitudinalmente e examinadas em MEV para avaliar os tipos de falha (adesiva, coesiva ou mista) após o deslocamento de cimento, assim como a presença ou ausência de cimento no interior dos túbulos dentinários. Os resultados obtidos indicaram que as amostras irradiadas com o laser de diodo e preenchidas com cimento AH Plus tinham valores significativamente maiores de resistência adesiva ( $P < 0,05$ ) do que os valores do grupo controle (sem irradiação laser). Por outro lado, independentemente da potência e da frequência, as amostras irradiadas por lasers e preenchidas com Epiphany não diferiram, significativamente, das amostras do grupo controle. Também, não houve diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) entre as amostras do grupo controle (sem irradiação laser).

Independentemente da aplicação do laser, houve uma predominância de falhas mistas para o AH Plus (67%) e falhas adesivas para Epiphany (77%). Concluiu-se, então, que a irradiação com laser de diodo de 980 nm em dentina do canal radicular aumentou a resistência do cimento AH Plus, mas não afetou a adesão do cimento Epiphany.

Moura-Netto et al. (2008) verificaram os efeitos do laser sobre a superfície da dentina intracanal por meio da análise das alterações morfológicas e remoção de detritos no terço apical de trinta (30) dentes humanos extraídos, preparados e irradiados com laser de Nd:YAG e laser de diodo. Pré-molares unirradiculares foram preparados até um tamanho de lima # 45 pela técnica manual crown-down, utilizando hipoclorito de sódio 1%, Endo-PTC (lubrificante) seguido de enxágue final com 10 ml de hipoclorito de sódio 1%. EDTA-T não foi usado para evitar influência sobre a remoção de detritos. Após, os dentes foram divididos em três grupos: Grupo 1 – não recebeu qualquer tipo de intervenção (grupo controle); Grupo 2 – canais irradiados com laser de Nd:YAG (Pulse Master 1000) com potência de 1,5 W, 100 mJ e 15 Hz, no modo pulsado; Grupo 3 – irradiados com laser de diodo de 810 nm (*laser smile*) de 2,5 W de potência em modo contínuo. Quatro irradiações foram realizadas com movimentos circulares, do ápice para a coroa, a uma velocidade de 2 mm/s, com um intervalo de 20 s entre as aplicações. As raízes foram divididas em direção vestibulo-lingual, e a superfície dentinária do terço apical foi examinada em MEV. Nas superfícies dos dentes irradiados, observou-se uma camada de *smear layer* e poucos túbulos dentinários visíveis. No grupo irradiado com o laser de Nd: YAG (G2), a fusão da dentina e a resolidificação foram observadas, com remoção parcial de *smear layer* e detritos,

proporcionando uma superfície irregular e não uniforme. Nas imagens do grupo irradiado com o laser de diodo (G3), houve fusão e ressolidificação da dentina com um padrão diferente do observado no grupo 2. Esse grupo (3) apresentava mais formações circulares e superfície mais uniforme de dentina, também com presença de alguns túbulos dentinários aparentemente fechados e de camada de *smear layer* residual. Ambos os grupos com laser apresentaram oclusão parcial dos túbulos dentinários e remoção de detritos. Os autores concluíram que as alterações morfológicas causadas pelo laser de Nd:YAG foram mais evidentes em comparação àquelas encontradas após a irradiação com laser de diodo. No entanto, esse último produziu superfícies mais uniformes. Ambos os lasers removeram parcialmente a camada de *smear layer*, e em comparação ao grupo controle houve diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ), o que não ocorreu, porém, quando os dois grupos de laser foram comparados.

Marchesan et al. (2008) avaliaram o efeito do laser diodo 980 nm em diferentes parâmetros na permeabilidade da dentina do canal radicular associado com diferentes irrigantes. Setenta e cinco (75) caninos superiores humanos foram instrumentados com 15 mm. Após a instrumentação, os dentes foram divididos, aleatoriamente, em três grupos e receberam irrigação final com 10 ml das seguintes soluções: (1) água destilada, (2) hipoclorito de sódio a 1%, (3) EDTAC a 17%. Uma irrigação final com 10 ml de água destilada e deionizada foi repetida para a remoção de remanescentes das soluções irrigadoras anteriores. Nessa etapa, os três grupos foram subdivididos em cinco subgrupos de cinco (5) dentes para cada irradiação a laser. O laser de diodo de 980 nm (Sirona) foi usado no estudo. Para a aplicação da luz laser, uma fibra

ótica de 200  $\mu\text{m}$  de diâmetro foi introduzida até a região apical, onde a luz foi ativada e, lentamente, a fibra foi retirada do canal radicular no sentido coronário, com movimento helicoidal, reintroduzida no ápice e retirada para um ciclo total de irradiação de 20 s. Potências de 1,5 e 3,0 W foram utilizadas no modo contínuo e pulsado (100 Hz). A permeabilidade da dentina no terço cervical e médio foi estatisticamente semelhante ( $P>0,05$ ), porém maior que o terço apical ( $P<0,01$ ), que apresentou os menores valores de permeabilidade, independentemente do tratamento utilizado.

Quando a análise estatística foi aplicada para os diferentes irrigantes, observou-se que, com a água, houve menor permeabilidade, seguida pelo hipoclorito de sódio e EDTAC ( $P<0,01$ ). Quando utilizada água destilada, com irradiação e modo contínuo, observou-se maior permeabilidade, em comparação com o modo pulsado. Na potência de 1 W, a permeabilidade da dentina aumentou em relação à potência de 3 W ( $P<0,01$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa na permeabilidade dentinária encontrada entre as amostras irrigadas apenas com hipoclorito de sódio e as irradiadas com laser ( $P>0,05$ ). A associação de EDTAC com laser mostrou menores valores de permeabilidade e com diferença estatisticamente significativa, se comparada às amostras somente com EDTAC ( $P<0,01$ ). Quando o laser foi associado à água, houve aumento da permeabilidade dentinária, enquanto a associação com EDTAC a diminuiu. A permeabilidade da dentina após a irradiação com laser foi diretamente dependente da solução utilizada para irrigação final, e os valores de permeabilidade dentinária diminuíram com a utilização do laser no modo contínuo, com 3 W de potência. As características morfológicas da dentina

intrarradicular pré-tratada com o hipoclorito de sódio ou EDTA e, em seguida, pela irradiação do laser de diodo ainda não foram determinadas.

Meire et al. (2009) realizaram um estudo para avaliar a ação antibacteriana usando irradiação laser (Nd:YAG, KTP), desinfecção fotoativada (PAD) e NaOCl a 2,5%, sobre o *E. faecalis*, numa suspensão aquosa e num modelo de dente infectado. Sessenta (60) dentes humanos com raiz de único canal foram preparados até um batente de tamanho apical 50, autoclavados, inoculados com uma suspensão de *E. faecalis* e incubados por 48 h. Os dentes foram distribuídos, aleatoriamente, em quatro grupos de tratamento e um grupo controle. No primeiro grupo, os dentes foram tratados com laser Nd:YAG (Fidelis) com modo pulsado e comprimento de onda de 1064 nm (n=10), com potência de 1,5 W e frequência de 10 Hz. A luz foi emitida por meio de uma fibra flexível de 200 µm de diâmetro. A fibra foi aplicada dentro do canal com movimento em espiral de apical para cervical, por cinco vezes de 5s com intervalos de 20 s. No segundo grupo, os dentes foram tratados com laser KTP (KTP Smartlite), com comprimento de onda 532 nm (n=10) no modo pulsado. A potência foi fixada em 1 W, e a frequência de pulso, em 10 Hz, aplicado da mesma forma que o primeiro grupo. No terceiro grupo, os dentes (n=10) foram submetidos a tratamento da PDA, utilizando como agente fotossensibilizante o TB na concentração de 12,7 mg/ml<sup>-1</sup> e pH 5. Depois de um tempo de irradiação, a luz (635 nm) gerada por um laser de diodo foi aplicada por meio de uma fibra com 15 mm de comprimento e 400 µm de diâmetro, que emite 70% da luz lateralmente à fibra (no longo eixo) e 30% da intensidade total de luz na ponta da fibra. Esse laser era aplicado com potência de 100 mW e tempo de irradiação de 150 s, de acordo com as recomendações do fabricante.

No quarto grupo (n=10), os canais foram preenchidos com solução NaOCl a 2,5%, através de um orifício. Após 5 min, o NaOCl foi secado no canal com pontas de papel esterilizado, e uma nova aplicação de hipoclorito de sódio foi feita. Passados 5 min, esse procedimento foi repetido, resultando em um tempo de contato total de 15 min. O quinto grupo (n=20), como controle positivo, não recebeu qualquer tratamento. Os autores obtiveram como resultados que, em suspensão aquosa, PAD e NaOCl reduzem significativamente o número de células de *E. faecalis* ( $P < 0,001$ ), enquanto Nd:YAG ou KTP não fazem efeito. No modelo de infecção dentária, somente o PAD e dentes tratados com NaOCl produziram resultados significativamente diferentes em relação aos controles não tratados ( $P < 0,001$ ). Diante disso, concluíram que os sistemas de laser, bem como PAD foram menos eficazes que o hipoclorito de sódio na redução de *E. faecalis*, tanto em suspensão aquosa como no modelo de infecção dentária.

Alfredo et al. (2009) avaliaram as alterações da dentina irradiada com laser de diodo de 980 nm em diferentes parâmetros, após o tratamento de superfície com hipoclorito de sódio e EDTA. Para tanto, utilizaram setenta (70) raízes de caninos inferiores preparados biomecanicamente e irrigados com hipoclorito de sódio 1% ou EDTA 17%. Os grupos foram divididos de acordo com os parâmetros do laser: 1,5 W/CW; 1,5 W/100 Hz; 3,0 W/CW; 3,0 W/100 Hz e sem irradiação (controle). As raízes foram subdivididas longitudinalmente e analisadas por MEV. A análise mostrou que as amostras tratadas somente com NaOCl ou EDTA (grupo controle) foram estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ ) das amostras irradiadas com laser, independentemente do tipo de parâmetro utilizado. As amostras tratadas com NaOCl apresentaram

uma superfície modificada pela luz laser com *smear layer*, fissuras e túbulos dentinários não visíveis. Aqueles tratados com EDTA e irradiados com luz laser apresentaram ausência de *smear layer*, túbulos parcialmente expostos e áreas de fusão. Com base nisso, os autores concluíram que os parâmetros testados com o laser de diodo de 980 nm promoveram alterações similares na morfologia da dentina, dependendo do tipo de pré-tratamento de superfície.

Laser não vem sendo utilizado amplamente na endodontia; porém, as alterações da parede dentinária causadas pela sua irradiação podem melhorar a capacidade de selamento de cimentos endodônticos. Moura-Netto et al. (2009) realizaram um estudo *in vitro* com o propósito de investigar a influência na capacidade de selamento de três diferentes cimentos resinosos endodônticos (AH Plus, Endo Rez e Real Seal) após aplicação de laser de diodo de 810 nm. Os pesquisadores utilizaram sessenta (60) dentes humanos unirradiculares que foram divididos aleatoriamente em seis grupos (n=10), de acordo com o cimento endodôntico e a irradiação do laser de diodo utilizada. Todas as amostras foram preparadas, empregando um sistema K3 rotatório (Sybron Endo) até um tamanho de batente apical 40.04, em associação com o hipoclorito de sódio 2,5%. Em seguida, os canais radiculares foram lavados com 15 ml de EDTA a 17%. O protocolo para irradiação do laser de diodo (Twilite) foi de 2,5 W de potência no modo contínuo, com quatro irradiações por dente. A ponta da fibra (0,3 mm) foi introduzida 1 mm aquém do comprimento de trabalho sem ativação do laser. O laser foi ativado, em seguida, em movimentos circulares de apical para cervical, ao longo da parede do canal radicular, num tempo de 2 mm/s, calculado de acordo com o comprimento de trabalho de cada dente, com

base em um tempo de irradiação de 0,5 s/mm. Esse procedimento foi repetido quatro vezes em intervalos de 20 s; depois disso, todas as raízes irradiadas foram lavadas, novamente, com 15 ml de água esterilizada. Antes da obturação, os dentes do grupo AH Plus foram secados com sucção e cones de papel, e as demais raízes foram secadas, utilizando aspiração com agulhas Navitip (Ultradent), apenas para manter a hidratação da parede dentinária. Um operador obturou todos os canais de todos os grupos, adotando a técnica de compactação lateral a frio. Os cimentos foram espatulados segundo as instruções do fabricante, e a abertura coronária foi selada com cimento de ionômero de vidro. Após a obturação, os dentes foram externamente revestidos com duas camadas de cianoacrilato de etila, exceto para os últimos 2 mm do terço apical. O forame apical foi coberto com filme plástico, e todas as amostras foram armazenadas por 72 h a 37°C e 100% de umidade relativa. Todas as amostras foram imersas e mantidas em solução de nitrato de prata a 50% (pH 9,5) por 24 h e, em seguida, lavadas, cuidadosamente, com água corrente. Após, as amostras foram incluídas em blocos de acrílico e divididas em duas seções. Depois da sua preparação, foi feita a análise, de acordo com a infiltração apical, com impregnação de nitrato de prata. Os resultados obtidos foram: cimento Real Seal alcançou taxas mínimas de infiltração (1,24 mm), com diferença significativa ao nível de 1% (teste Tukey,  $P < 0,01$ ) para o AH Plus (1,84 mm) entre os grupos não irradiados. Quando o laser foi usado, houve, também, diferença significativa ao nível de 5% ( $P < 0,05$ ), entre os grupos irradiados (1,31 e 1,78 mm, respectivamente). Os pesquisadores concluíram, então, que a irradiação com laser de diodo de 810 nm reduziu a infiltração marginal apenas no grupo AH Plus, trazendo piores resultados nos outros grupos,

embora sem grande diferença estatística entre eles. O Real Seal cimento endodôntico apresentou melhores resultados no que diz respeito à infiltração apical do que o Endo-Rez e o AH Plus, mas a irradiação do laser de diodo 810 nm não promoveu diferença significativa na infiltração apical.

Hmud et al. (2010a) realizaram um estudo para determinar se cavitações poderiam ser geradas em líquidos, usando dois diferentes aparelhos de laser de diodo (Ez laser e Sirolaser), com 940 nm e 980 nm de comprimento de onda, respectivamente, aplicando em ambos potência máxima de 7 W com luz pulsada e contínua e com frequência máxima de 10 KHz. Utilizaram um modelo de tubo capilar de vidro com 1 mm de diâmetro e 14 mm de comprimento preenchido com 11 ml de líquido. Os líquidos escolhidos foram H<sub>2</sub>O destilada, H<sub>2</sub>O de torneira, H<sub>2</sub>O destilada desgaseificada, H<sub>2</sub>O ozonizada e peróxido de hidrogênio 3% e 6%. A luz laser foi aplicada com uma fibra de 200 µm de diâmetro, e a formação das cavitações foi observada com auxílio de um microscópio. O tempo gasto entre o início da irradiação e o primeiro sinal de formação de bolhas no interior do tubo foi de 30 s. Todo o estudo foi repetido duas vezes. As configurações do aparelho foram 2,5 W/25 Hz para o Sirolaser e 4 W/10 Hz para o Ezlase. A potência na ponta das fibras, quando medidas usando laser de alta potência, foi de 1,35 e 1,68 W, respectivamente. Como resultados, os autores observaram que, em água destilada, ambos os sistemas de lasers poderiam induzir à cavitação, começando com 2,5 W/25 Hz para o Sirolaser e 4 W/10 Hz para o Ezlase, considerando que as configurações mostradas no painel poderiam ser conseguidas nos primeiros 5 s do tratamento. Quando aumentada a potência média, com ambos os lasers, o tempo necessário

para induzir a cavitação diminuiu. Variando a frequência de pulso, não houve um efeito significativo sobre o tempo necessário para induzir cavitações, assim como não houve diferença estatística quanto ao tempo para formar cavitação nos diversos tipos de água. O peróxido de hidrogênio, nas concentrações de 3% e 6%, foi significativamente mais rápido do que os demais líquidos, porém não houve diferença significativa entre as duas concentrações de peróxido. A cavitação ocorreu em água destilada mais rapidamente com Sirolaser ( $P=0,0018$ ), ao passo que a cavitação em ambos os peróxidos de hidrogênio 3% e 6% foi mais rápida com o Ezlase do que com o Sirolaser ( $P<0,0001$ ). Concluíram, portanto, que ambos os comprimentos de onda do laser de diodo utilizados no estudo podem produzir bolhas de cavitação em água e em fracas soluções de peróxido de hidrogênio. Esse fenômeno pode ter aplicação potencial no canal radicular para melhorar a remoção de detritos e *smear layer*.

Hmud et al. (2010b) afirmaram que tratamentos endodônticos com laser de diodo, tais como a desinfecção ou a geração de escavações, não devem causar alterações térmicas deletérias na dentina radicular. Sob essa premissa, os autores realizaram um estudo com o objetivo de avaliar alterações térmicas no canal radicular e na superfície da raiz ao utilizar aparelho de laser Ezlase com 940 nm de comprimento de onda e potência de 4 W/10 Hz e Sirolaser 980 nm com 2,5 W/25 Hz, com fibras de 200  $\mu\text{m}$  de diâmetro capazes de gerar escavações com auxílio de água destilada. A temperatura da superfície radicular no terço apical foi aferida, assim como a temperatura da água no terço cervical, médio e apical, usando termopares colocados dentro do canal, os quais foram conectados a termômetros digitais, permitindo medição de temperatura

de + - 0,1°C. A aplicação foi realizada com períodos de 5 s de descanso ou irrigação entre as exposições de laser, e o resultado obtido com ambos os aparelhos induziu mudanças de temperatura modestas na superfície externa da raiz com as configurações usadas. Apesar de a temperatura da água dentro do canal ter aumentado para 30°C durante a irradiação, a temperatura da superfície externa da raiz aumentou apenas 4°C. A irrigação entre as exposições com laser foi altamente eficiente na minimização de alterações térmicas no interior do canal radicular e na superfície da raiz, o que permitiu concluir que ambos os aparelhos de laser de diodo induzem a cavitação com fluidos aquosos no canal radicular. Não obstante, são seguros em termos de alterações térmicas e injúrias aos tecidos adjacentes, desde que a fibra seja movimentada e a irrigação seja usada entre as exposições do laser.

Dewsnup et al. (2010) desenvolveram um estudo *in vitro*, comparando a redução de *E. faecalis* em canais retos e curvos mediante tratamento a laser (Er,Cr:YSGG) contra a irrigação tradicional com hipoclorito de sódio 6,15%. Cinquenta e cinco (55) dentes unirradiculares humanos foram extraídos e separados em dois grupos, de acordo com a curvatura da raiz: retas e curvas. Os comprimentos radiculares foram padronizados (14,0 mm) e instrumentados, e a irrigação foi realizada com NaOCl 6,15%. As amostras foram, então, esterilizadas e inoculadas com *E. faecalis* e divididas em sete grupos: Grupo NS – canais retos tratados com NaOCl 6,15% (n=10); Grupo NC – canais curvos tratados com NaOCl 6,15% (n=10); Grupo LS – canais retos tratados com laser (n=10); Grupo LC – canais curvos tratados com laser (n=10); Grupo PCS – canais retos para controle positivo (n=5); Grupo PCC – canais curvos para controle positivo (n=5); Grupo NegC

para controle negativo (n=5). A redução bacteriana foi medida pela contagem das UFC, e o nível de significância foi fixado em  $P \leq 0,05\%$ . Todos os dentes do controle positivo apresentaram crescimento bacteriano, ao passo que nenhum do controle negativo teve crescimento. Os grupos NS, NC e LS apresentaram crescimento bacteriano em uma de 10 amostras (10%) após o tratamento. No grupo LC, três (3) de dez (10) dentes (30%) apresentaram crescimento bacteriano após o tratamento. A UFC foi comparada, utilizando um teste de Kruskal-Wallis, e nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os quatro grupos de tratamento ( $P > 0,05$ ). No entanto, houve diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos de tratamento e os controles positivos ( $P < 0,001$ ). Análise de variância foi realizada para comparar a densidade ótica entre os grupos, mostrando diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais e controles positivos. Portanto, os autores concluíram que as técnicas tradicionais de irrigação com NaOCl 6,15% e a aplicação de laser Er, Cr: YSGG podem ser efetivas na eliminação de bactérias em canais curvos e retos.

Nagayoshi et al. (2011) investigaram os efeitos antimicrobianos da irradiação com laser de diodo em combinação com um fotossensibilizador contra *E. faecalis*. Para isso, utilizaram um modelo *in vitro* de um defeito de uma lesão periapical formado a partir de blocos de resina que foram contaminados com *E. faecalis*. O modelo foi esterilizado antes de cada experimento. O laser de diodo (P-Laser; Panasonic Dental Co., Ltda., Osaka, Japão) com comprimento de onda de 805 nm e potência de 5 W, juntamente com um fundo de contraste fluorescente usado como fotossensibilizador, foi inserido no canal radicular, até chegar ao ápice, e, em seguida, os microrganismos foram

irradiados por 30, 60 e 120 s. Além disso, o modelo foi irrigado com 4 ml de solução salina esterilizado por 120 s para o controle negativo e 4 ml de NaOCl 2,5% por 120 s, como controle positivo. Diferenças entre as variáveis dos experimentos foram comparadas com Student's t-test. Não houve diminuição microbiana sem o fotossensibilizador; porém, com a sua presença, o *E. faecalis* diminuiu para 72% após a irradiação por 30 s e não foi detectado após a irradiação de 60 s ou mais. Irrigação com solução salina não teve efeito antimicrobiano, ao passo que, com NaOCl 2,5%, o *E. faecalis* foi completamente eliminado. Os autores concluíram que a irradiação com laser de diodo em combinação com um fotossensibilizador tem quase o mesmo efeito antimicrobiano que o NaOCl 2,5%. Assim, o uso de um laser de diodo com um fotossensibilizador é recomendável para o tratamento de lesões periapicais, sem efeitos adversos sobre os tecidos circundantes.

Mehrvarzfar et al. (2011) realizaram um estudo *in vitro*, avaliando o efeito do laser de diodo 810 nm após a desinfecção com soluções irrigantes de canais contaminados com *E. faecalis*. Cento e seis (106) pré-molares humanos unirradiculares foram preparados e contaminados com *E. faecalis*. Após duas semanas de incubação, as amostras foram divididas em: controle negativo (n=5), controle positivo (n=5) e mais dois grupos (n=48), que, por sua vez, foram subdivididos em quatro subgrupos (n=12). No primeiro grupo, doze (12) dentes foram irrigados com 5 ml de solução salina por 5 min no subgrupo A; no subgrupo B, os dentes foram irrigados com 5 ml de NaOCl 2,5% por 5 min; no subgrupo C, as amostras foram irrigadas com 1,2 ml de gluconato de clorexidina a 2% por 1 min; e no subgrupo D, os doze (12) dentes foram irrigados com 5 ml de Biopure MTAD, durante 5 min. No

segundo grupo, além das irrigações semelhantes às do primeiro, foram irradiadas, adicionalmente, com um laser de diodo (Twilite™, Biolase Technology, San Clemente, CA, EUA), com comprimento de onda de 810 nm e potência de 2 W em modo contínuo. As amostras foram semeadas para determinar a contagem de UFC, e os valores, analisados por Kruskal-Wallis. Mann-Whitney U-test foi utilizado para comparações dos subgrupos. Ausência de crescimento foi observada no controle negativo, e todas as placas de controle positivo mostraram um extenso crescimento bacteriano ( $1.84 \times 10^4 \pm 8.08 \times 10^3$ ). No primeiro grupo, foram observadas diferenças significativas entre o subgrupo A e os subgrupos B, C e D ( $P < 0,0001$ ). O NaOCl 2,5% foi tão eficaz quanto CHX 2% e significativamente mais eficaz do que MTAD ( $P < 0,008$ ). No segundo grupo, a utilização de MTAD, CHX 2% ou NaOCl 2,5%, em combinação com tratamento a laser, teve um efeito similar, mas a ausência de crescimento bacteriano foi observada apenas no subgrupo D (MTAD e laser). Com isso, os autores concluíram que a terapia combinada de irrigação e irradiação com laser, principalmente quando se utiliza Biopure MTAD, é um tratamento eficaz como opção para eliminar o *E. faecalis* do canal radicular.

## PROPOSIÇÃO

Este trabalho se propõe a avaliar se a laserterapia de alta intensidade, associada à terapia endodôntica convencional, empregando-se diferentes soluções químicas, tem a capacidade de reduzir a incidência de *Enterococcus faecalis*.

Reduzir as contagens de *E. faecalis* intracanal por meio da utilização de clorexidina gel 2% e hipoclorito de sódio a 2,5%, associado a uma técnica híbrida de preparo mecânico, testando a hipótese que ambas substâncias reduzirão as contagens bacterianas.

Avaliar a efetividade antimicrobiana de protocolos convencionais de preparo do canal radicular, utilizando as soluções irrigadoras NaOCl 2,5% e CHX 2% gel, associado ao emprego do laser de diodo de alta potência, em canais radiculares infectados com *E. faecalis*.

**CAPÍTULO I**

**AÇÃO ANTIMICROBIANA DO HIPOCLORITO DE  
SÓDIO A 2,5% E CLOREXIDINA GEL 2% EM  
RAÍZES CONTAMINADAS COM  
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

Tiago Lange dos Santos<sup>1</sup>  
Eduardo Dall'Magro<sup>2</sup>  
Alessandra Kuhn-Dall'Magro<sup>3</sup>  
Bruna Corrêa<sup>4</sup>  
Bruna Marin Fronza<sup>5</sup>  
Fernanda Colla<sup>6</sup>

Eduardo Dall'Magro, Rua Paissandú, 641/803, Passo Fundo –  
RS, Cep 99010-100, Fones: (54) 8112-8242/ (54) 3601-0723.

---

<sup>1</sup> Especialista em Endodontia UNICSUL- SP. Aluno PPGodonto UPF.

<sup>2</sup> Especialista em prótese Dentária – USP. Mestre em Laser em Odontologia (LELO)-USP. Mestre e Doutor em Materiais Dentários – UNICAMP. Professor Titular das disciplinas de Dentística e Materiais Dentários FOUPF. Professor do Programa de Mestrado FOUPF.

<sup>3</sup> Especialista em CTBMF – Santa Casa – Porto Alegre. Mestre em Ciências Médicas – UFRGS. Cirurgiã Bucomaxilofacial – Hospital São Vicente de Paulo de Passo Fundo.

<sup>4</sup> Acadêmica FOUPF.

<sup>5</sup> Acadêmica FOUPF.

<sup>6</sup> Acadêmica de Graduação em Medicina Veterinária (UPF).

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar, *in vitro*, a efetividade antimicrobiana da CHX 2% gel e do NaOCl 2,5%, associado ao preparo mecânico do canal radicular, em canais infectados com *Enterococcus faecalis*. Quarenta e cinco (45) pré-molares com um único canal foram inoculados com *E. faecalis* por 14 dias. As raízes foram divididas em três grupos: GC – sem tratamento; G1 e G2, preparados mediante técnica híbrida (manual + ProTaper) e irrigados com CHX 2% e NaOCl 2,5%, respectivamente. Testes microbiológicos (contagem de UFC) foram realizados para avaliação dos tratamentos propostos. As médias dos grupos foram comparadas por Anova, complementada pelo teste de Tukey a 5% de significância. As substâncias testadas, CHX 2% gel e NaOCl 2,5% são substâncias químicas auxiliares do PQM que promovem uma redução significativa do *E. faecalis*.

**Palavras-chave:** hipoclorito de sódio, clorexidina, *Enterococcus faecalis*, irrigantes do canal radicular.

**ANTIMICROBIAL ACTION OF SODIUM  
HYPOCHLORITE AT 2,5% AND CHLORHEXIDINE  
GEL AT 2% IN CONTAMINATED ROOTS BY  
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

**ABSTRACT**

The objective of the present study was to perform an in vitro assessment concerning the antimicrobial effectiveness of CHX at 2% gel and of NaOCl at 2.5%, associated with the mechanical preparation of root canal, on canals infected with *Enterococcus faecalis*. Forty five (45) premolars with single canal were inoculated with *E. faecalis* for 14 days. The roots were divided in three groups: CG – without treatment; G1 and G2, prepared upon hybrid technique (manual + ProTaper) and irrigated with CHX 2% and NaOCl 2.5%, respectively. Microbiological tests (UFC counting) were performed for the assessment of the proposed treatments. The averages of the groups were compared through Anova, complemented by Tukey test at 5% significance. The substances tested, CHX 2% gel and NaOCl 2.5% are chemical substances adjunct to the chemical-mechanic preparation, promoting a significant reduction of *E. faecalis*.

**Key words:** sodium hypochlorite, chlorhexidine, *Enterococcus faecalis*, root canal irrigants.

## I.1 Introdução

A presença de bactérias após necrose pulpar é fundamental para o estabelecimento de doença periapical. Em dentes com necrose pulpar, as bactérias são, inicialmente, restritas ao sistema de canais radiculares. No entanto, os túbulos dentinários<sup>1-2</sup> e ramificações do canal são importantes áreas de propagação, contribuindo para a criação de um grande número de formas bacterianas<sup>3</sup>. A desinfecção endodôntica é realizada com preparo químico-mecânico (PQM), uma associação de modelagem e desinfecção do conduto radicular com auxílio de substâncias químicas<sup>4</sup>. Mesmo com as atuais técnicas de instrumentação e os diferentes tipos de soluções irrigantes auxiliares, como hipoclorito de sódio e clorexidina, existe dificuldade quanto à sua penetração e ação nesses sistemas de canais radiculares, devido às diferentes formas e à resistência dos patógenos presentes<sup>5</sup>. O *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) é uma bactéria gram-positiva anaeróbia facultativa que possui a capacidade de proliferar na presença ou ausência de oxigênio. Sua resistência reside, principalmente, na capacidade de crescimento como um biofilme nas paredes do canal radicular<sup>6</sup> e na facilidade em penetrar no interior dos túbulos dentinários<sup>7</sup>. O *E. faecalis* pode permanecer viável nos canais de raízes obturadas até 12 meses após o tratamento, sendo capaz de penetrar nos túbulos dentinários até 100 µm a partir da luz do canal<sup>8</sup>.

As qualidades desejáveis de um irrigante incluem a capacidade de dissolver tecido pulpar e restos de tecidos orgânicos, bem como de remover a camada de esfregaço (*smear layer*), além de baixa toxicidade, proporcionando um efeito bactericida e bacteriostático. O hipoclorito de sódio (NaOCl) é o irrigante mais frequentemente utilizado no tratamento

endodôntico. Tem atividade solvente para os tecidos necróticos e vitalizados, é antibacteriano, mas também revela um efeito citotóxico, pois, quando injetado para os tecidos periapicais, tem, ainda, potencial corrosivo e pode causar reações alérgicas<sup>9</sup>, deixar um mau cheiro e gosto desagradável<sup>10</sup>. A clorexidina (CHX) é um potente agente antimicrobiano com substantividade, tendo eficácia sobre as bactérias gram-negativas e gram-positivas, bem como sobre as leveduras. Contudo, microbactérias, esporos e a maioria dos vírus são resistentes a essa substância<sup>11</sup>. O hipoclorito de sódio e a clorexidina não possuem ação sobre os componentes inorgânicos da camada de esfregaço (*smear layer*). Irrigação com soluções, tais como ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), têm sido recomendadas como adjuvantes no tratamento do canal radicular, haja vista a sua capacidade de remover a camada de matéria inorgânica<sup>12</sup>.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar, *in vitro*, a efetividade antimicrobiana da CHX 2% gel e do NaOCl 2,5%, associados a uma técnica híbrida de preparo mecânico do canal radicular, em canais infectados com *E. faecalis*, testando a hipótese que ambas substâncias reduzirão as contagens bacterianas.

## **I.2 Materiais e métodos**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Passo Fundo (UPF) pelo Parecer nº 229/2011.

Quarenta e cinco (45) raízes de pré-molares inferiores unirradiculares com canal único, fornecidas pelo Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia (FO) da UPF, foram cortadas abaixo da

junção amelocementária, no sentido perpendicular ao longo do eixo da raiz, com disco diamantado, padronizando um comprimento de 13 mm e, depois, limpas e esvaziadas com o auxílio de lima tipo KF tamanho 15 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) e hipoclorito de sódio a 2,5% para remoção dos restos pulpares. Após, as amostras foram alargadas até a lima tipo KF tamanho 30 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça), com desgaste cervical com broca de Gattes Glinden n° 3 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça), para padronizar o diâmetro dos canais. As raízes, então, foram impermeabilizadas externamente com cianoacrilato (Super Bonder®, Loctite Henkel, Itapevi, SP, Brasil) e secadas em temperatura ambiente por 24 h. A seguir, as raízes foram montadas em tubos Eppendorf de 1,5 ml e envoltas em silicone pesado de condensação (Zetaplus, Zhermack, Rovigo, Itália) para lhes dar suporte. Na sequência, foram esterilizadas em autoclave a 134°C por 15 min para receber o inóculo. Para o controle de esterilização, cinco (5) amostras foram escolhidas aleatoriamente, e uma ponta de papel esterilizado foi inserida no interior de cada amostra preenchida previamente com solução de Ringer esterilizada e deixada por 15 s, retiradas e acondicionadas, individualmente, em tubos Eurotype contendo 1 ml de solução fisiológica 0,9%. O material foi homogeneizado e, após 5 min, uma alíquota de 100 µL de solução salina foi cultivada, em duplicata, em Agar sangue. As amostras foram incubadas por 48 h a 37°C, verificando que não houve crescimento bacteriano em nenhuma das amostras.

### I.2.1 Preparo do inóculo

Para a contaminação das amostras, utilizou-se inóculo de uma cepa de *E. faecalis* (ATCC 29212) em um tubo de ensaio contendo 5 ml de caldo Tryptic Soy Broth (TSB - Merck®) e incubada por 24 h a 37°C. Após o período de incubação, ajustou-se o grau de turbidez do inóculo, de acordo com a escala 1,0 de Mac Farland, que corresponde a  $3,0 \times 10^8$  células, referente a uma densidade ótica de 0,25 a 550 nm<sup>13</sup>.

### I.2.2 Contaminação dos canais radiculares

Com o auxílio de seringas descartáveis estéreis (Med-Inject®) de 1 ml, aspirou-se uma alíquota do inóculo contido no tubo e, após, suspendeu-se o conteúdo da seringa no interior dos canais radiculares até o seu preenchimento completo. Diariamente, uma nova cultura com turbidez equivalente era injetada nos canais radiculares das amostras, durante 14 dias em temperatura de 37°C.

### I.2.3 Divisão dos grupos

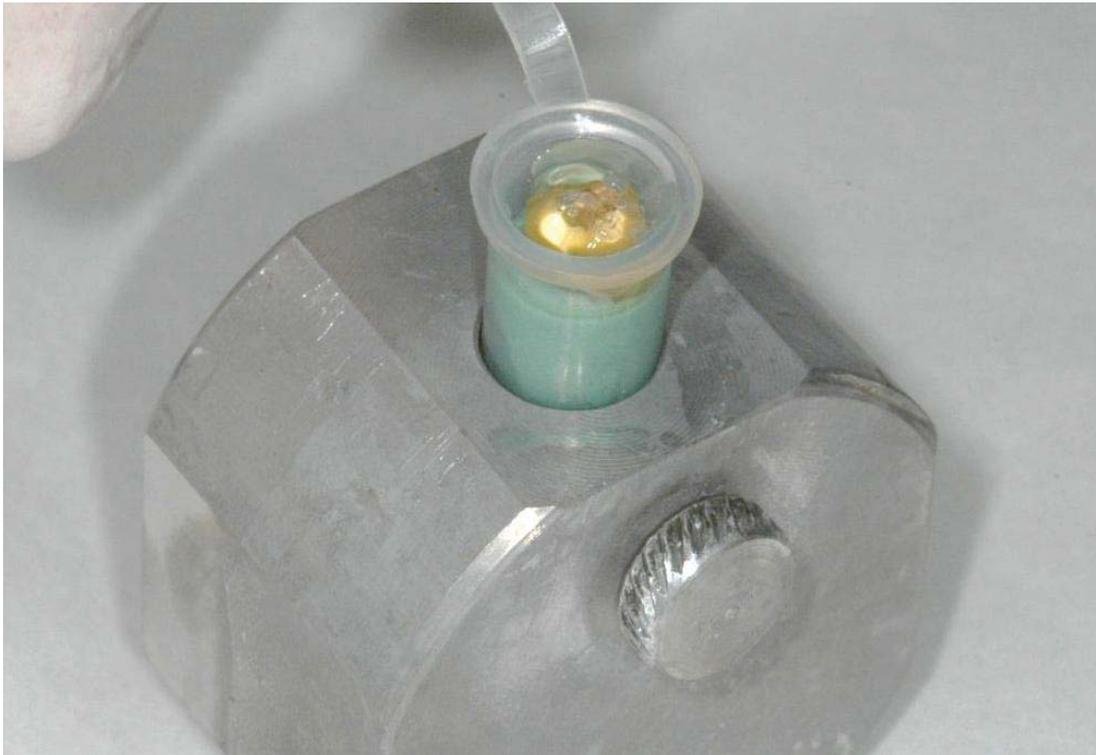
As amostras foram divididas, aleatoriamente, em uma bancada de fluxo laminar horizontal em grupo controle positivo – G0 (n=15); grupo que recebeu tratamento com hipoclorito de sódio a 2,5% – G1 (n=15); e grupo com tratamento com clorexidina gel 2% – G 2 (n=15).

### I.2.4 Controle dos níveis de contaminação (grupo controle)

Após o período de incubação de 14 dias, pontas de papel absorvente estéril de tamanho # 35 (Tanari®) foram inseridas nos canais durante 15 s, retiradas e acondicionadas, individualmente, em tubos Eurotype contendo 1 ml de solução fisiológica 0,9%. Em seguida, cada tubo foi sonicado durante 20 s para realização das diluições seriadas até  $10^{-4}$ , e semeadas na superfície da placa contendo Agar Plate Count Agar (PCA-AES®). As placas foram incubadas durante 24 h, a 37°C, para observar o crescimento no material coletado das amostras de cada grupo avaliado.

#### I.2.5 Tratamentos

Utilizou-se um suporte de latão com um orifício na parte superior, para fixar o tubo Eppendorf de 1,5 ml com a amostra, a fim de realizar os tratamentos (Figura I.1).



*Figura I.1 - Suporte de latão para sustentação das amostras.*

No G1 (n=15), foi realizada instrumentação híbrida com sistema rotatório Protaper (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça), com as limas SX, F2 e F3 e limas manuais tipo KF tamanho # 35 e # 40 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça). Procedeu-se à irrigação de 4 ml de solução de NaOCl 2,5% em cada troca de instrumento, totalizando 20 ml de solução de NaOCl a 2,5% para cada amostra, por meio da técnica coroa-ápice, e irrigação final com 5 ml de EDTA-T 17% (Fórmula & Ação), enxaguados com 5 ml de soro fisiológico e secados com pontas de papel absorvente esterilizado. (Tanari®).

No G2 (n=15), procedeu-se à instrumentação híbrida da mesma forma que o grupo anterior, utilizando, aproximadamente, 1 ml de gel de clorexidina a 2% (Clean Form 2% gel, Fórmula & Ação) e irrigação com 5 ml de soro fisiológico a cada troca de instrumento, totalizando 5 ml de gel com o total de irrigação de 20 ml de soro fisiológico cada amostra,

durante o preparo, e irrigação final com 5 ml de EDTA-T 17% (Fórmula & Ação), enxaguados com 5 ml de soro fisiológico e secados com pontas de papel absorvente esterilizado (Tanari®).

#### I.2.6 Análise microbiológica após os tratamentos

Após o tratamento, solução de Ringer estéril foi colocada em todos os canais, e pontas de papel estéreis foram inseridas no comprimento de trabalho e deixadas por 15 s para absorver o conteúdo do conduto radicular. As pontas de papel foram, então, retiradas e acondicionadas em tubos Eurotype® contendo 1 ml de solução fisiológica 0,9%, para serem sonificadas, durante 20 s, e plaqueadas em duplicata. Posteriormente, as placas de Petry contendo Agar foram semeadas com 25 µL e incubadas durante 48 h na temperatura de 37°C, para realização de contagem direta de colônias<sup>14</sup>, onde se considerou incontável amostra com número superior a 300 UFC.

As médias foram comparadas pela Anova e complementadas pelo teste Tukey a 5% de significância. (Tabela I.1).

Tabela I.1 - Teste de Tukey a 5% de significância.

<b>Grupos</b>	<b>n</b>	<b>UFC em Log10</b>	<b>UFC</b>	<b>Redução (%)</b>	<b>Erradicação</b>
CONTROLE POSITIVO	15	2,49± 0,017 A	296,73	-	-
G1	15	1,04± 0,088 B	1,27	99,57	7/15
G2	15	1,08 ± 0,071 B	2,07	99,30	1/15

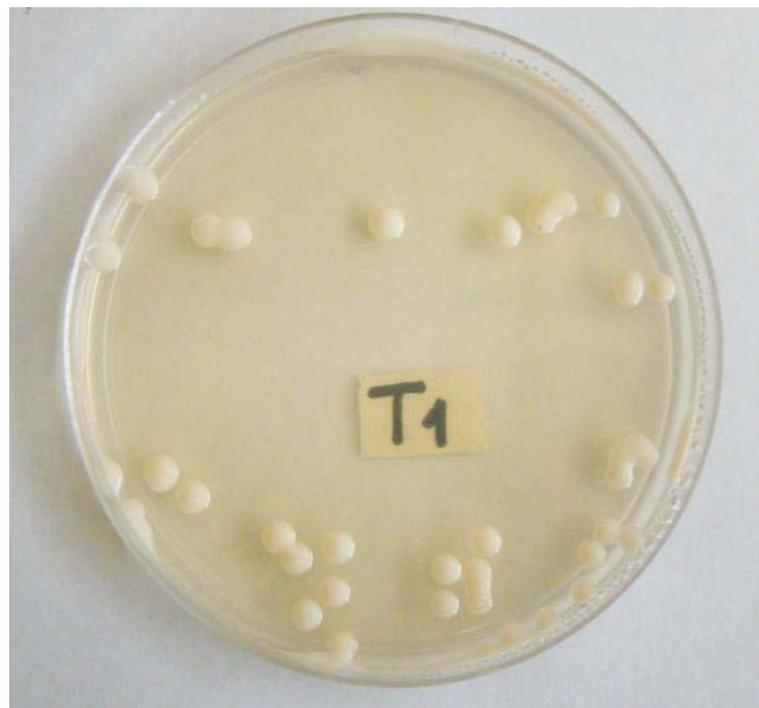
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

### I.3 Resultados

Os resultados mostraram que não houve diferença estatística significativa entre G1 e G2, havendo, porém, diferença estatística significativa desses grupos em relação ao grupo controle positivo. O G1 teve redução microbiana, em relação ao grupo controle, de 99,57%, apresentando erradicação de sete (7) amostras de um total de quinze (15); já o G2 teve redução microbiana de 99,30% em relação ao grupo controle e erradicação de apenas uma (1) amostra de um total de quinze (15). (Figuras I.2 e I.3).



*Figura I.2 - Placa de petry sem crescimento bacteriano.*



*Figura I.3 - Placa de petry com crescimento bacteriano.*

## I.4 Discussão

As populações bacterianas foram reduzidas para níveis abaixo da capacidade de detecção dos métodos de cultura-dependente. O G1 teve redução microbiana, em relação ao grupo controle, de 99,57%, apresentando erradicação microbiana em sete (7) amostras de um total de quinze (15). O G2 teve redução microbiana de 99,30% em relação ao grupo controle e erradicação de apenas uma (1) amostra de um total de quinze (15). Esses níveis podem ser compatíveis com cicatrização dos tecidos perirradiculares, na maioria dos casos<sup>15</sup>. Tal resultado pode ter ocorrido em razão da viscosidade da CHX, dificultando sua penetração e remoção mecânica, além de o tempo de ação no interior dos canais ter sido de 8 min e 30 s (tempo médio) do preparo neste grupo (G2) e, talvez, o alargamento pode ter sido insuficiente para melhor desempenho dessa substância química<sup>16</sup>.

Os resultados indicaram que a clorexidina em gel 2% (G 4) tem grande potencial para ser usada como substância química auxiliar no PQM, confirmando os achados de Gomes *et al.*<sup>17</sup>, que verificaram que a solução de clorexidina gel 2% e o NaOCl 5,25% tinham desempenhos similares contra *E. faecalis*. Nessa mesma perspectiva, no presente estudo, o gel de clorexidina a 2% obteve resultados semelhantes ao NaOCl a 2,5% quanto à redução bacteriana em relação ao grupo controle.

Gomes *et al.*<sup>16</sup>, em trabalho *in vivo*, concluíram que o NaOCl 2,5% e gel de CHX 2% não foram eficazes na eliminação de endotoxinas dos canais radiculares infectados. Esses resultados corroboram com os

do presente estudo, pois NaOCl 2,5% e CHX gel 2% também não foram capazes de esterilizar todos os condutos contaminados com *E. faecalis*.

Siqueira *et al.*<sup>18</sup> realizaram estudo clínico para comparar a eficácia do NaOCl 2,5% e gluconato de clorexidina a 0,12% como soluções irrigantes em canais infectados de dentes com periodontite apical. Concluíram que não houve diferença significativa entre as duas soluções irrigantes, confirmando os resultados deste estudo em relação ao NaOCl e à clorexidina, que não conseguiram promover a esterilização dos condutos. É possível que o *E. faecalis* tenha sofrido mutações genéticas devido às suas passagens por laboratórios e multiplicações, com alteração do seu genótipo e fenótipo, aumentando, assim, sua resistência<sup>19</sup>.

A clorexidina gel a 2%, apesar de apresentar substantividade comprovada, efeitos residuais antimicrobianos de dias a semanas<sup>11-20-10</sup>, inclusive até 12 semanas, apresentou redução microbiana (G2- 99,30%) semelhante ao hipoclorito de sódio a 2,5% (G1- 99,57%).

Há muitas razões para a persistência bacteriana nos canais após a instrumentação e irrigação com NaOCl ou clorexidina. Uma delas é que as bactérias persistentes podem ser intrinsecamente resistentes ao irrigante, ou estar em áreas inacessíveis aos efeitos dos instrumentos e irrigantes. Outra razão está no curto tempo de contato da substância química auxiliar com o biofilme bacteriano e na possibilidade de as bactérias persistentes serem incorporadas em remanescentes de tecido ou organizadas em estruturas como o biofilme bacteriano, ficando protegidas contra os efeitos letais de irrigantes<sup>18</sup>.

Retamozo *et al.*<sup>21</sup> afirmaram que a irrigação durante 40 min com NaOCl a 2,5% é ineficaz na eliminação do *E. faecalis*. No presente

estudo, o tempo médio do PQM do G1 foi de 7min30s, e apesar de ser pouco tempo de contato, obteve-se um resultado de erradicação (7 de 15 amostras) e redução microbiana bastante positivo.

Os estudos atuais não mostram diferença significativa entre clorexidina e NaOCl no que diz respeito à atividade antimicrobiana<sup>16-17-18-21-22-23-24-25</sup>. A Clorexidina tem demonstrado ser menos tóxica do que o NaOCl<sup>9-26</sup>, importando ressaltar que, quanto maior a concentração do NaOCl, maior o seu poder bactericida, tornando-se mais tóxico aos tecidos periapicais<sup>27-28-21</sup>. Por outro lado, o hipoclorito de sódio possui baixa tensão superficial (ação umectante), pH alcalino, quando não exposto à luz e armazenado de forma correta<sup>29</sup>, e é solvente de matéria orgânica<sup>30</sup>. No entanto, uma desvantagem importante da clorexidina é a incapacidade de dissolução tecidual, sendo esse um dos benefícios do NaOCl<sup>16</sup>.

## **I.5 Conclusão**

Pode-se concluir que ambas as soluções utilizadas neste estudo apresentaram redução microbiana significativa com mais de 99% em relação ao grupo controle. Apesar de nenhuma das duas substâncias propostas neste estudo promoverem a erradicação do *E. faecalis*, os resultados indicaram que a clorexidina em gel 2% (G 2), com 99,30% de redução microbiana, tem grande potencial para ser usada como substância química auxiliar no PQM, da mesma forma que o hipoclorito de sódio a 2,5% (G1) com 99,57%.

## Referências

1. Safavi KE, Spangberg LS, Langeland K. Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endod* 1990; 16(5):207-210.
2. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod* 2005; 99(2):231-252.
3. Tanomaru Filho JM, Leonardo MR. Tanomaru-Filho M, Silva LA, Ito IY. Microbial distribution in the root canal system after periapical lesion induction using different methods. *Braz Dent J* 2008; 19(2):124-9.
4. Soares IJ, Goldemberg F. *Endodontia: técnica e fundamentos*. Porto Alegre: Artmed; 2001.
5. Ferraz CCR, Gomes BPF, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod* 2001; 27:452-455.
6. Körstgens V, Flemming HC, Wingender J, Borchard W. Uniaxial compression measurement device for investigation of the mechanical stability of biofilms. *J Microbiol Methods* 2001; 46(1):9-17.
7. Nair PN. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod* 1987; 13(1):29-39.
8. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987; 66(8):1375-1379.
9. Tiralí RE, Turan Y, Akal N, Karahan ZC. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of NaOCl and octenisept in

elimination of endodontic pathogens. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod* 2009; 108(5):117-120.

10. Ariaz-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez M. P, Valderrama MJ, Baca P. Eradication of enterococcus faecalis biofilms by cetrimide and chlorhexidine. *J Endod* 2010; 36(1):87-90.
11. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil J. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endod Top* 2005; 10:71-102.
12. Ariaz-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod* 2009; 35(5):711-714.
13. Souza EB, Cai S, Simionato MR, Lage-Marques JL. High-power diode laser in the disinfection in depth of the root canal dentin. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod* 2008; 106(1):68-72.
14. Madigan MT, Madingo JM, Parker J. *Microbiologia de Brock*. 10. ed. São Paulo: Person Prentice-Hall; 2004.
15. Siqueira Jr. JF, Rôças JF. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 2008; 34(11):1291-1301.
16. Gomes BP, Martinho FC, Vianna ME. Comparison of 2,5% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine gel on oral bacterial lipopolysaccharide reduction from primarily infected root canals. *J Endod* 2009; 35(10):1350-1353.
17. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of enterococcus faecalis. *Int Endod J* 2001; 34(6):424-428.

18. Siqueira Jr. JF, Rôças JF, Paiva SS, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod* 2007; 104(1):104-122.
19. Haapasalo M, Wei Q, Portenier I, Waltimo T. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod* 2007; 33(8):917-925.
20. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J* 2007; 52(1):64-82.
21. Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate enterococcus faecalis bonnie. *J Endod* 2010; 36(3):520-523.
22. Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod* 1994; 2(6):276-81.
23. Heling I, Chandler NP. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. *Int Endod J* 1998; 31(1):8-14.
24. Sen BH, Safavi KE, Spangberg LS. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *J Endod* 1999; 25(4):235-8.
25. Ercan E, Ozekinci T, ATAKUL F, Gül K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *J Endod* 2004; 30(2):84-7.
26. Tanomaru Filho JM, Leonardo MR, Silva LA, Aníbal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *Int Endod J* 2002; 35(9):735-39.

27. Chang YC, Huang FM, Tai KW, Chou MY. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod* 2001; 92(4):446-50.
28. Pelka M, Petschelt A. Permanent mimic musculature and nerve damage caused by sodium hypochlorite: a case report. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod* 2008; 106(3):80-83.
29. Camps J, Pommel L, Aubut V, Verhille B, Satoshi F, Lascola B, About I. Shelf life, dissolving action, and antibacterial activity of a neutralized 2,5% sodium hypochlorite solution. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod* 2009; 108(2):66-73.
30. Sena NT, Gomes BP, Vianna ME, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. *Int Endod J* 2006; 39(11):878-85.

**CAPÍTULO II**

**EFEITO ANTIMICROBIANO DO LASER DE DIODO  
DE ALTA POTÊNCIA ASSOCIADO A DIFERENTES  
IRRIGANTES NO PREPARO DE CANAIS  
CONTAMINADOS COM *ENTEROCOCCUS  
FAECALIS***

Tiago Lange dos Santos<sup>1</sup>, BDS, MSC, Luciana Ruschel dos Santos<sup>1</sup>,  
MSC, PHD, Alessandra Kuhn-Dall'Magro<sup>1</sup>, BDS, MSC, Fabiana Vieira  
Vier-Pelisser<sup>2</sup>, BDS, MSC, PHD, Fernanda Colla<sup>3</sup>, Eduardo  
Dall'Magro<sup>1</sup>, BDS, MSC, PHD

1 Post-Graduate Program, Faculdade de Odontologia, Universidade de  
Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, Brazil

2 Departamento de Endodontia, Post-Graduate Program, Faculdade de  
Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
(PUCRS), Porto Alegre, Brazil

3 Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Agricultura e Medicina  
Veterinária, Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, RS,  
Brazil. Fellow PIBIC CNPq.

## Resumo

**Objetivo:** avaliar a efetividade antimicrobiana de protocolos convencionais de preparo do canal radicular, utilizando as soluções irrigadoras hipoclorito de sódio (NaOCl) 2,5% e clorexidina (CHX) 2% gel, associados ou não ao laser (L) de diodo de alta potência, em canais radiculares infectados com *E. faecalis*. **Métodos:** Após esterilização, cento e vinte (120) raízes de dentes humanos com canal único foram inoculadas com *E. faecalis* por 14 dias. As raízes foram divididas, aleatoriamente, em seis grupos (G) (n=20): G NaOCl – preparo com NaOCl 2,5%; G NaOCl/L – preparo com NaOCl 2,5% e laser 3 W; G CHX – preparo com CHX gel 2%; G CHX/L – preparo com CHX gel 2% e laser 3 W; G NaCl/L – preparo com soro fisiológico e laser 3 W e grupo controle positivo (GC+) – sem tratamento. A contagem de UFCs foi realizada para avaliação dos tratamentos. As médias dos grupos foram comparadas por Anova e complementadas pelo teste de Tukey ( $\alpha < 5\%$ ). **Resultados:** O NaOCl teve redução de 89,82%; NaOCl/L de 99,42%; CHX de 81,86%; CHX/L de 93,48% e SORO/L de 65,40%. Houve diferença estatística significativa nas UFCs de todos os grupos em relação ao GC+ [ $P < 0,05$ ] e também diferença entre o NaOCl, NaOCl/L, CHX E CHX/L em relação ao NaCl/L [ $P < 0,05$ ]. **Conclusão:** O laser de diodo de alta potência, quando associado ao emprego de NaOCl 2,5% e CHX 2%, potencializou o efeito antimicrobiano sobre o *E. faecalis*.

**Palavras-chave:** laser de diodo, hipoclorito de sódio, clorexidina, *Enterococcus faecalis*, irrigantes do canal radicular.

# ANTIMICROBIAL EFFECT OF HIGH POWER DIODO LASER ASSOCIATED TO ANTIBACTERIAL SOLUTIONS IN CONTAMINATED CANALS WITH ENTEROCOCCUS FAECALIS

## Abstract

**Aim:** to evaluate antimicrobial effect of conventional protocols of root canal preparation, using sodium hypochlorite (NaOCl) 2,5% and chlorhexidine (CHX) 2 % gel, associated or not to high-power diode laser (L), in root canals inoculated with *E.faecalis*. **Methods:** one hundred and twenty (120) human teeth with single canal were inoculated with *E. faecalis* for fourteen days and randomly divided in six groups (G) (n=20), according to use of irrigant solution and laser: G NaOCl and G CHX – prepared with NaOCl 2,5% and CHX gel 2%,; G NaOCl/L, G CHX/L and G NaCl/L - prepared with NaOCl 2,5%, CHX gel 2% and sterile saline, respectively, associated to Laser 3 W and, positive control Group (GC+) –without treatment. All root canals were prepared with hybrid technique, employed hand files and rotary NiTi files (ProTaper). The means CFUs counting of the groups were compared by Anova and complemented by tukey test ( $\alpha < 5\%$ ). **Results:** NaOCl had reduction of 89,82%; NaOCl/L of 99,42%; CHX of 81,86%; CHX/L of 93,48% and NaCl/L of 65,40%; there was significant statistical difference in CFUs of all groups in relation to GC+ [ $p < 0,05$ ] and also difference among NaOCl, NaOCl/L, CHX e CHX/L in relation to NaCl/L [ $P < 0,05$ ].

**Conclusion:** High-power diode laser, when associated to the use of NaOCl 2,5% and CHX 2%, potentiated the antimicrobial effect on *E. faecalis*.

**Key words:** diode laser, sodim hypochlorite, chlorhexidine, *Enterococcus faecalis*, root canal irrigants.

## II.1 Introdução

A maioria dos insucessos endodônticos relaciona-se a falhas nos processos de desinfecção e à manutenção dos microrganismos no sistema de canais radiculares. A literatura mostra que o índice de sucesso dos retratamentos endodônticos é menor do que o da terapia endodôntica convencional, ficando em torno de 75% (1). Este fato relaciona-se a dificuldades nos processos de desinfecção, provavelmente devido a uma microbiota distinta nesses casos.

O *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), bactéria anaeróbia facultativa, cresce na forma de biofilme nas paredes do canal radicular e facilmente penetra nos túbulos dentinários, podendo proliferar tanto na presença quanto na ausência de oxigênio (2, 3). Possui, também, uma matriz extrapolissacarídea (EPS), que lhe proporciona estabilidade mecânica (4) e dificulta a ação de substâncias coadjuvantes à terapia endodôntica (5, 6). Pode sobreviver por até 10 dias em túbulos dentinários sem uma fonte de nutrientes (7) e, ainda, permanecer viável nos canais de raízes obturadas até 12 meses após o tratamento (8). Assim, nesses casos, além do uso dos meios físicos e mecânicos, associados a diferentes substâncias com capacidade antimicrobiana,

como o hipoclorito de sódio e a clorexedina, faz-se necessária uma diferente abordagem para a obtenção de adequada limpeza do sistema de canais radiculares.

Nesse contexto, o uso do laser surge como um coadjuvante no preparo do canal (9, 10, 11, 12). Diversos pesquisadores avaliaram os efeitos da irradiação do laser de alta potência, como laser de diodo e laser Er,Cr:YSGG, na desinfecção de dentina radicular e suas possíveis aplicações na endodontia (13, 6, 9). A energia do laser de alta potência pode ser transmitida no canal da raiz por meio de uma fibra ótica, sendo capaz de alcançar regiões inacessíveis à instrumentação e a substâncias químicas. O laser de diodo, por ser de fácil transporte e uma alternativa mais econômica em relação aos lasers de alta potência Er,Cr:YSGG; Nd:YAG; CO<sup>2</sup>, deve ser testado, para que seu uso seja considerado uma possibilidade na terapia endodôntica.

O objetivo do presente estudo é avaliar a efetividade antimicrobiana de protocolos convencionais de preparo do canal radicular, utilizando as soluções irrigadoras NaOCl 2,5% e CHX 2% gel, associadas ou não ao emprego de laser de diodo de alta potência, em canais radiculares infectados com *E. faecalis*.

## **II.2 Materiais e métodos**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Passo Fundo (UPF) pelo Parecer nº 229/2011.

A execução da parte experimental foi realizada por um único operador em capela de fluxo laminar (modelo Pa 230, Pachane, Piracicaba, , Brasil). (Figura II.1).



*Figura II.1 - Câmara de fluxo laminar com o material para os tratamentos.*

Cento e trinta (130) raízes de pré-molares inferiores com canal único, oriundos do Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia (FO) da UPF foram padronizadas em um comprimento de 13 mm, limpas, esvaziadas com auxílio de lima tipo K 15 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) e irrigadas com NaOCl 2,5% (Natupharma, CRF 2288, Passo Fundo, Brasil). As amostras foram alargadas até o instrumento flexofile 30 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça), tendo sido efetuado o desgaste cervical com broca de Gattes Glidden nº 3 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça). As raízes foram impermeabilizadas externamente com Cianocrilato (SuperBonder®, Loctite Henkel, Itapevi, Brasil), secas em temperatura ambiente por 24 h, montadas em tubos Eppendorf de 1,5 ml, envoltas em silicone pesado de condensação (Zetaplus, Zhermack, Rovigo, Itália) e esterilizadas em

autoclave a 134°C por 15 min (Cristófoli-LTDA, Campo Mourão, Brasil). (Figura II.2).



*Figura II.2 - Amostras após serem autoclavadas.*

### II.2.1 Controle de esterilização

Dez (10) amostras escolhidas aleatoriamente foram preenchidas com solução de Ringer esterilizada. Uma ponta de papel esterilizado foi inserido, por 15 s, no interior do canal radicular, e transferido para tubos Eurotype, contendo 1 ml de solução fisiológica 0,9%. O material foi homogeneizado e, após 5 min, uma alíquota de 100  $\mu$ L de solução salina foi cultivada, em duplicata, em Agar sangue. As amostras foram incubadas por 48 h a 37°C, para verificação de crescimento bacteriano.

## II.2.2 Preparo do inóculo

Inoculou-se 10  $\mu$ L da cepa de *E. Faecalis* (ATCC29212) em um tubo de ensaio contendo 5 ml de caldo Tryptic Soy Broth (TSB - Merck®), que foi incubado por 24 h a 37°C. Ajustou-se o grau de turbidez do inóculo, de acordo com a escala 1,0 de Mac Farland (6) utilizando caldo TSB.

## II.2.3 Contaminação dos canais radiculares

Com o auxílio de seringas descartáveis esterilizadas (Med-Inject®, São José, Brasil), aspirou-se uma alíquota de 0,8 ml do inóculo e suspendeu-se o mesmo no interior dos 120 canais radiculares restantes, até o seu preenchimento completo. Diariamente, uma nova cultura com turbidez equivalente era injetada nos canais radiculares das amostras, durante 14 dias em temperatura de 37°C.

## II.2.4 Controle da contaminação

Em vinte (20) amostras aleatoriamente escolhidas (GC+), inseriram-se pontas de papel absorvente esterilizado # 35 (Tanari®, Manacapuru, Brasil), por 15 s. Após, foram acondicionadas em tubos Eurotype contendo 1 ml de solução fisiológica 0,9%, sonicados (20 s). Diluições seriadas até  $10^{-4}$  foram realizadas. A partir da amostra diluída, uma alíquota de 25  $\mu$ L foi semeada em placas contendo Agar Plate Count Agar (PCA- AES®), utilizando-se alça de Drygalsky, que foram incubadas por 48 h, a 37°C. Foram realizados testes de catalase e oxidase

(New Prov®), além da coloração de Gram, para a avaliação da caracterização morfotintorial das colônias de *E. faecalis*.

## II.2.5 Divisão dos grupos

As amostras (n=120) foram divididas, aleatoriamente, segundo a substância química utilizada durante o PQM e o emprego ou não de laser de diodo de alta potência, conforme demonstrado na Tabela II.1.

*Tabela II.1- Grupos experimentais conforme substância química utilizada no preparo do canal e emprego subsequente ou não do laser.*

<b>Group</b>	<b>n</b>	<b>Root canal preparation</b>	<b>Irrigant solution</b>	<b>Laser</b>
NaOCl	20	Sim	Hipoclorito de sódio 2,5%*	Não
NaOCl/L	20	Sim	Hipoclorito de sódio 2,5%*	Sim
CHX	20	Sim	Clorexidina gel 2% **	Não
CHX/L	20	Sim	Clorexidina gel 2% **	Sim
NaCl/L	20	Sim	Soro fisiológico***	Sim
C+	20	Não	Nenhuma	Não
Total	120			

\*Natupharma, CRF 2288, Passo Fundo, Brasil

\*\* Clean Form 2% gel, Fórmula & Ação, São Paulo, Brasil

\*\*\* Solução salina 0,9%, Baso, Caxias do Sul, Brasil

## II.2.6 Preparo do canal e emprego do laser

Durante os tratamentos, as amostras foram posicionadas em um suporte de latão com um orifício central para sua fixação. O comprimento de trabalho foi estabelecido em 12 mm.

Empregou-se a técnica de preparo coroa-ápice, sendo os seguintes instrumentos usados, sequencialmente: SX, F2 (Figura II.3) e F3 do sistema rotatório Protaper (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) e limas manuais flexofile 35 e 40 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça). O motor utilizado foi o X- Smart (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) com velocidade de 300 rotações/min e torque 2 N/cm<sup>2</sup>. O volume total de solução irrigadora foi o mesmo para todos os grupos (30 ml de solução). A cada troca de instrumento, procedeu-se à irrigação dos canais com 4 ml da solução irrigadora empregada para cada grupo. Após o uso do instrumento #40, fez-se irrigação com 5 ml de EDTA-T 17% (Fórmula & Ação, São Paulo, Brasil), seguido por 5 ml de soro fisiológico. Nos grupos onde a CHX foi usada, 1 ml dessa substância foi empregado anteriormente a cada instrumento, e após o canal irrigado com 4 ml de soro fisiológico (Figura II.4). No grupo NaCl/L, a única substância irrigadora utilizada foi o soro fisiológico, não sendo empregado o EDTA-T a 17%. Após, os canais foram secos com pontas de papel absorvente esterilizado (Tanari®, Manacapuru, Brasil).



*Figura II.3 - Instrumentação rotatória com Pro Taper (lima F2).*



*Figura II.4 - Substâncias químicas utilizadas.*

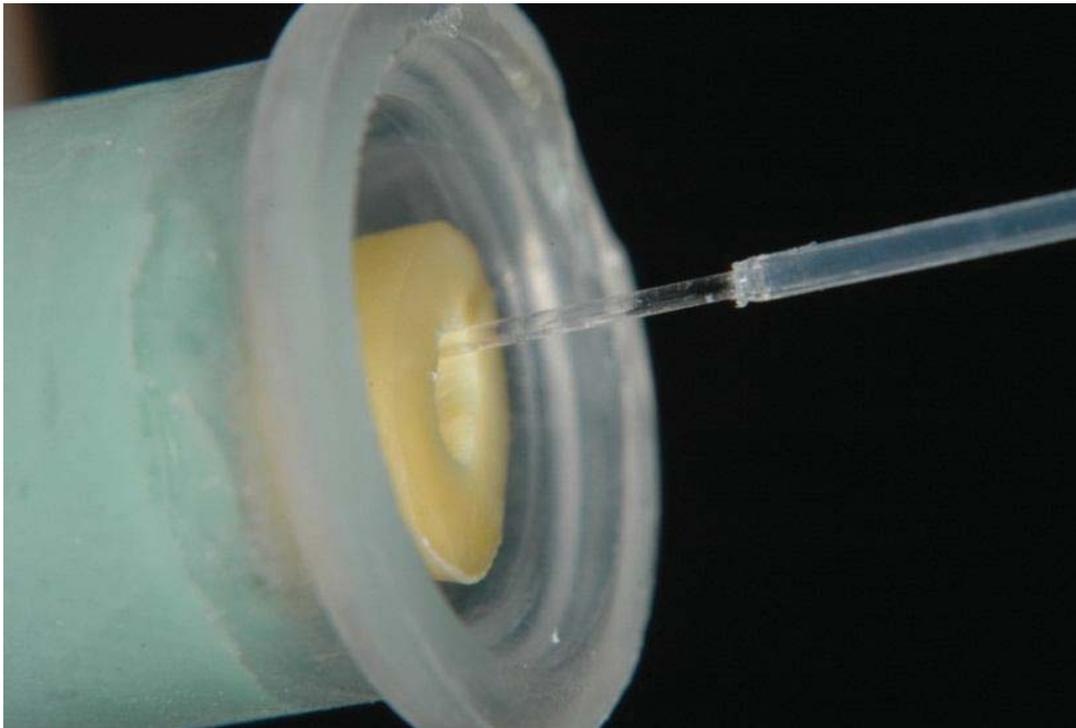
Nos grupos onde o laser foi empregado, após o término dos preparos, as amostras foram irradiadas com laser de diodo (Opus 10, Sharplan, UK) do Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO), da Universidade de São Paulo (USP), com 830 nm, infravermelho, e 3 W de potência em modo contínuo, por meio da técnica de movimentos helicoidais desenvolvida por Gutknecht *et al.* (14), posicionando a fibra a 1 mm do comprimento de trabalho e recuando com velocidade de aproximadamente 2 mm/s, com duração de 5 s cada aplicação (Figuras II.5, II.6, II.7, II.8), com quatro repetições em intervalos de 10 s entre uma e outra.



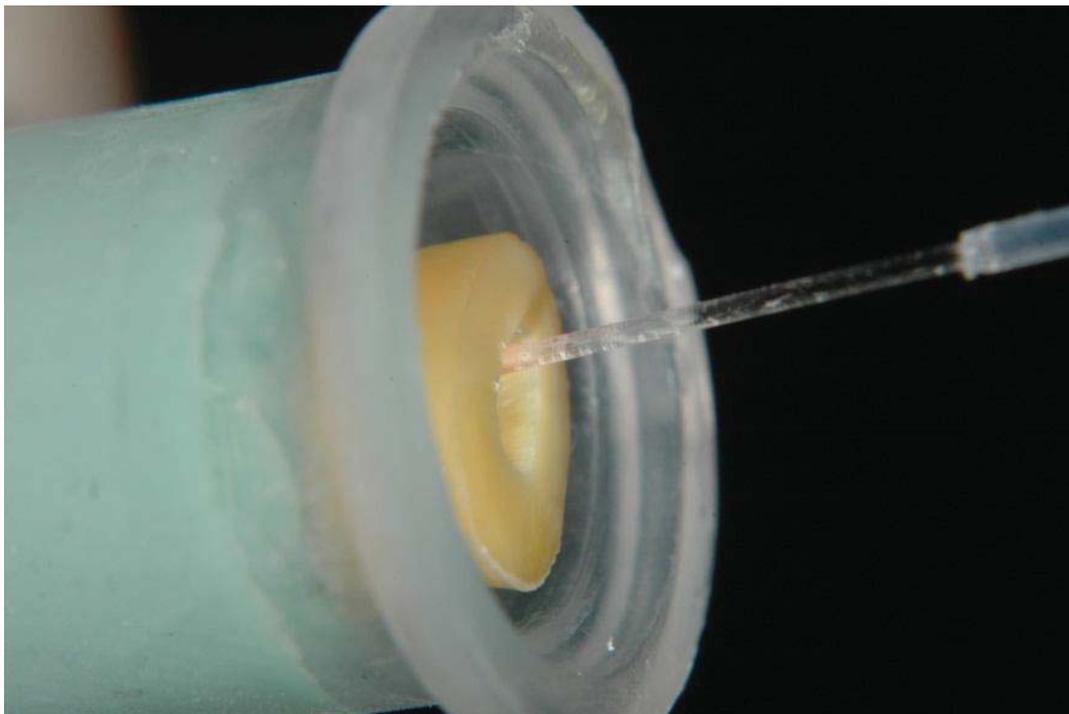
*Figura II.5 - Início da aplicação.*



*Figura II.6 - Recuando durante a aplicação.*



*Figura II.7 - Continuação da aplicação.*



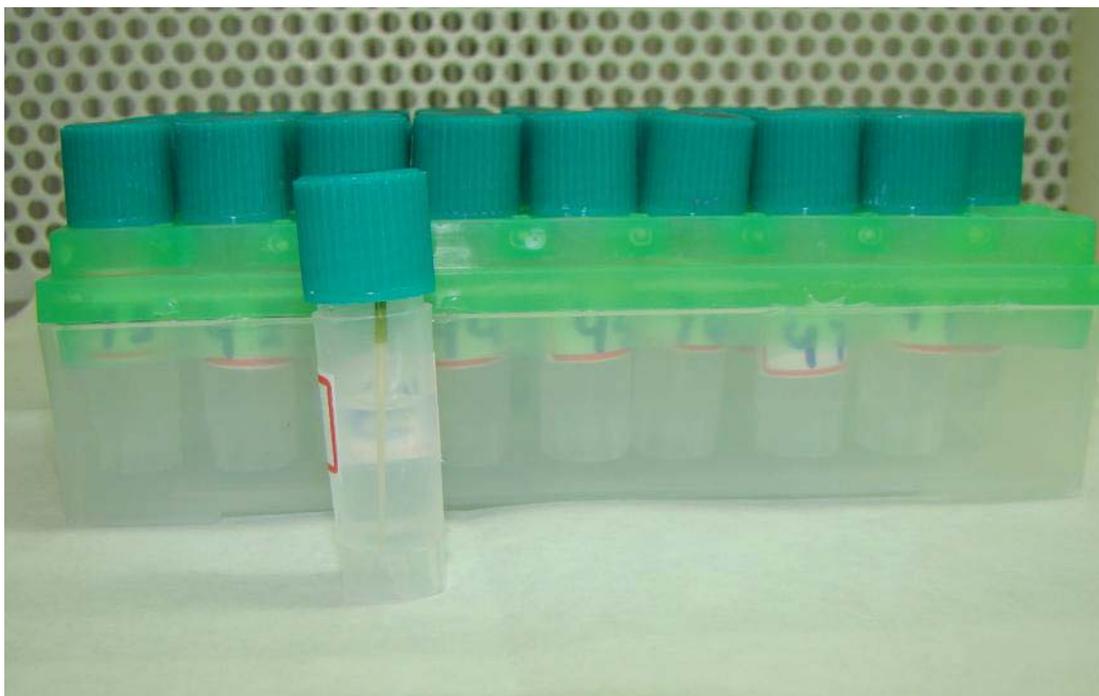
*Figura II.8 - Finalizando a aplicação.*

### II.2.7 Avaliação microbiológica

Após os tratamentos, solução de Ringer esterilizada foi colocada nos canais e pontas de papel esterilizado #35 (Tanari®) foram inseridas no comprimento de trabalho, por 15 s (Figura II.9), e, posteriormente, acondicionadas em tubos Eurotype® contendo 1 ml de solução fisiológica 0,9% (Figura II.10), sonicadas (Figura II.11) e plaqueadas em duplicata. Após incubação por 48 h a 37°C, realizou-se a contagem direta de UFCs.



*Figura II.9 - Cone de papel inserido na amostra preenchida com solução de Ringer.*



*Figura II.10 - Eurotip® com cone de papel para ser sonicado.*



*Figura II.11 - Sonicador utilizado na pesquisa.*

As médias dos grupos foram comparadas por Anova e complementadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. (Tabela II.2).

### **II.3 Resultados**

Não houve crescimento bacteriano nas amostras destinadas ao controle de esterilização (Figura II.12).

As UFCs em logaritmo de base 10 apresentadas em cada grupo, assim como a redução de contaminação, quando comparadas ao grupo controle positivo (GC+), ou seja, sem tratamento, estão expressas na Tabela II.2.

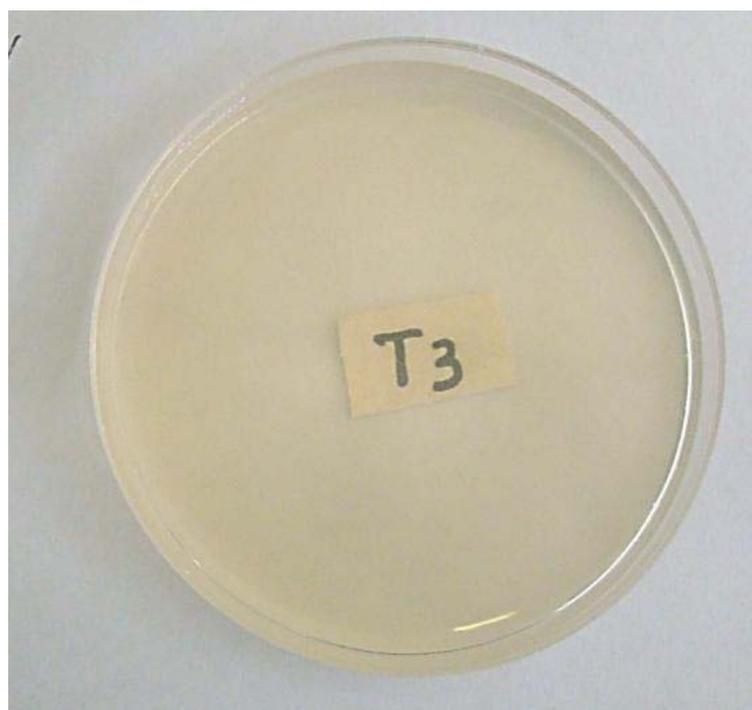


Figura II.12 - Placa de petry sem crescimento bacteriano.

Tabela II.2 - LOG CFU and reduction in relation ao GC+.

<b>Grupos</b>	<b>UFC/ml em Log10</b>	<b>Redução (%)</b>	<b>Erradicação (%)</b>
GC+	2,43 <sup>C</sup> ± 0,11		-
G NaOCl	1,25 <sup>A</sup> ± 0,45	89,82	35
G NaOCl/L	1,04 <sup>A</sup> ± 0,13	99,42	85
GCHX	1,36 <sup>A</sup> ± 0,53	81,86	5
GCHX/L	1,18 <sup>A</sup> ± 0,37	93,48	40
GSORO/L	1,78 <sup>B</sup> ± 0,48	65,40	5

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

O grupo controle positivo (GC+) apresentou média de 2,43 UFC/ml em Log10, o qual foi a referência inicial de contaminação, sendo estatisticamente diferente dos grupos tratados ( $P < 0,05$ ). Não

houve diferença significativa entre o G NaOCl e o G CHX, associados ou não ao laser ( $P>0,05$ ). Porém, estes se apresentaram menos contaminados do que o G NaCl/L ( $P<0,05$ ).

## II.4 Discussão

O *E. faecalis* é uma das espécies predominantes nos casos de lesões refratárias ao tratamento (1, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22). Por isso, grande parte da pesquisa endodôntica atual procura formas mais eficientes de combater esse microrganismo. Nesse contexto, o emprego do laser de alta potência pode ser um coadjuvante no combate da infecção endodôntica intracanal, tendo demonstrado índices de redução microbiana que podem ultrapassar 99% (23). Os resultados do presente estudo demonstram uma maior redução de UFCs nos grupos onde o laser foi empregado, quando associado a soluções irrigadoras com capacidade antimicrobiana como o hipoclorito de sódio 2,5% e a clorexedina gel 2%.

No grupo onde o soro fisiológico foi empregado associado ao laser, apesar de ter demonstrado redução de 65,40% em relação ao GC+, não erradicou o *E. faecalis* em nenhuma das amostras. Acredita-se que essa redução no G NaCl/L tenha ocorrido em virtude do alargamento do canal (24), associado ao efeito da constante irrigação/aspiração do canal e ao emprego do laser.

Tais resultados apontam que, mesmo com o emprego de meios mecânicos (instrumentos endodônticos), físicos (irrigação e aspiração) e químicos (capacidade antimicrobiana da solução irrigadora) associados ao uso do laser de alta potência, não foi possível controlar de forma

absoluta a infecção do sistema de canais radiculares, como também demonstrado por Siqueira *et al.* (25). Há muitas razões para a persistência bacteriana nos canais após a instrumentação e irrigação com soluções antimicrobianas como o NaOCl e a clorexidina. Uma delas é que as bactérias persistentes podem ser intrinsecamente resistentes ao irrigante, ou estar em áreas inacessíveis aos efeitos dos instrumentos e irrigantes. Outra razão está no curto tempo de contato da substância química auxiliar com o biofilme bacteriano e na possibilidade de as bactérias persistentes serem incorporadas em remanescentes de tecido ou organizadas em estruturas como o biofilme bacteriano, ficando protegidas contra os efeitos letais de irrigantes (25). Além disso, cumpre ressaltar que a coleta foi realizada imediatamente após a conclusão do preparo. Talvez coletas em tempos superiores pudessem demonstrar canais com maiores graus de contaminação, em virtude de uma possível proliferação de bactérias dos túbulos dentinários para a luz do canal radicular, como demonstrado por Oliveira *et al.* (26) e Dornelles-Morgental *et al.* (27).

Embora o uso do NaOCl tenha sido consagrado na literatura, essa solução pode alterar a dentina periférica, reduzindo o módulo de elasticidade e resistência à flexão, ou, mesmo, alterar a permeabilidade da dentina intertubular, devido à dissolução dos componentes orgânicos nela presentes (9). Por isso, o uso do gluconato de clorexidina como irrigante durante a terapia endodôntica tem sido sugerido em razão do seu potente efeito antimicrobiano, baixo grau de toxicidade (24, 27, 28, 29), bem como pela substantividade, ou seja, efeitos residuais antimicrobianos de dias a semanas (29, 30), ou até 12 semanas (31). No entanto, Gomes *et al.* (24) relataram que uma formulação mais viscosa

da CHX poderia facilitar a instrumentação e sua penetração, aumentando, assim, a remoção mecânica de contaminantes do canal radicular. Apesar de se ter empregado a CHX na forma de gel neste estudo, essa apresentou menor (81,86%) redução microbiana e erradicou apenas uma (1) amostra de vinte (20), em relação ao hipoclorito de sódio a 2,5% (89,82%), que erradicou sete (7) amostras de vinte (20). Talvez esse fato possa estar vinculado ao esquema de irrigação empregado, onde a CHX gel foi aplicada e, após a utilização do instrumento, o canal era irrigado com 4 ml de soro fisiológico, que provavelmente diluía o gel no interior do conduto, diminuindo o tempo de ação e o contato dessa substância com as paredes do canal radicular. Além disso, o estado de gel da substância pode ter prejudicado sua difusão no canal radicular.

Nos grupos onde se empregou o NaOCl, foi possível verificar maior efeito antimicrobiano, quando comparado com a clorexedina, apesar de ausência de diferença estatística entre os grupos. Talvez possa explicar tal achado o fato de o mesmo ter sido utilizado em estado líquido e de apresentar baixa tensão superficial (ação umectante), facilitando sua ação e penetração nos túbulos dentinários e istmos. No presente estudo, o tempo médio de preparo do canal do grupo NaOCl foi de 7min30s, o que já foi capaz de promover uma redução microbiana de 99,42%. Retamozo *et al.* (32) afirmaram que mesmo tempos de irrigação de 40 min com NaOCl 2,5% são ineficazes na eliminação de *E. faecalis*, enaltecendo o importante papel de uma instrumentação e alargamentos adequados nesse contexto.

Ainda que não tenha havido diferença estatística entre os grupos, os maiores valores de redução de UFCs deram-se nos grupos onde o laser foi empregado, associado a substâncias com capacidade

antimicrobiana (NaOCl – 99,42% e CHX – 93,48%), resultados muito semelhantes aos obtidos por Fonseca *et al.* (33), podendo esses níveis ser compatíveis com a cicatrização dos tecidos perirradiculares, na maioria dos casos (34). Esse maior efeito ocorreu, provavelmente, devido à desnaturação proteica de microrganismos provocada pelo laser, em virtude da penetração da luz laser nos tecidos biológicos, podendo agir no interior dos túbulos dentinários, aumentando sua capacidade de desinfecção, além da ação fototérmica da irradiação do laser de alta intensidade (23). Cumpre salientar que, ao empregar repetições curtas e com intervalos de 10 s entre as mesmas, não há aumento exacerbado de temperatura na superfície radicular externa (14). Para aplicar o laser de alta potência intracanal, é necessário um alargamento das raízes superiores no diâmetro da fibra ótica, que podem variar de 200 µm a 600 µm. No presente estudo, foi utilizada uma fibra com 300 µm, sendo os canais preparados, em apical, até o diâmetro correspondente a um instrumento 40.

O laser de diodo de alta potência, quando associado ao NaOCl 2,5% e à CHX gel 2%, potencializou o efeito antimicrobiano sobre o *E. faecalis*, em números absolutos, parecendo ser um promissor auxiliar na desinfecção de canais contaminados.

## **Referências**

1. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg, Oral Med Oral Pathol.* 1998; 8(1):86-922.

2. Nair PN. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod.* 1987; 13(1):29-39.
3. Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of enterococcus faecalis in root canals.ex vivo. *Int Endod J.* 2005; 38(10): 735-4.
4. Körstgens V, Flemming HC, Wingender J, Borchard W. Uniaxial compression measurement device for investigation of the mechanical stability of biofilms. *J Microbiol Methods.* 2001; 46(1):9-17.
5. Ariaz-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP, Valderrama MJ, Baca P. Eradication of enterococcus faecalis biofilms by cetrimide and chlorhexidine. *J Endod.* 2010; 36(1):87-90.
6. Souza EB, Cai S, Simionato MR, Lage-Marques JL. High-power diode laser in the disinfection in depth of the root canal dentin. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod.* 2008; 106(1):68-72.
7. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. 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(1):86-93.
8. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res.* 1987; 66(8):1375-1379.
9. Marchesan MA, Brugnera-Junior A, Ozorio JE, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Effect of 980-nanometer diode laser on root canal permeability after dentin treatment with different chemical solutions. *J Endod.* 2008; 34(6):721-724.
10. Souza LC, Brito PR, Oliveira JC, Alves FR, Moreira EJ, Sampaio-Filho HR et al. Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intracanal

reduction of enterococcus faecalis. *J Endod.* 2010; 36(2):292-296.

11. Garcez AS, Nuñez SC, Hamblim MR, Suzuki H, Ribeiro MS. Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. *J Endod.* 2010; 36(9):1463-1466.
12. Rios A, He J, Glickman GN, Spears R, Schneiderman ED, Honeyman AL. Evaluation of photodynamic therapy using a light-emitting diode lamp against enterococcus faecalis in extracted human teeth. *J Endod.* 2011; 37(6):856-859.
13. Dewsnup N, Pileggi R, Haddix J, Nair U, Walker C, Varella CH. Comparison of bacterial reduction in straight and curved canals using erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser treatment versus a traditional irrigation technique with sodium hypochlorite. *J Endod.* 2010; 36(4):725-728.
14. Gutknecht N, Kaiser F, Hassan A, Lampert F. Long-term clinical evaluation of endodontically treated teeth by Nd:YAG lasers. *J Clin Laser Med Surg.* 1996; 14(1):7-11.
15. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod.* 1992; 18(9):427-30.
16. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J.* 2003; 36(1):1-11.
17. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998; 31(1):1-7.
18. Souza-Filho FJ, Soares AJ, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CCR, Gomes BPFA. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. *Braz Dent J.* 2008; 19(1):28-33.

19. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a lithuanian population. *J Endod.* 2000; 26(10):593-5.
20. Roças IN, Siqueira Jr. JF, Santos KR. Association of *enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod.* 2004; 30(5):315-320.
21. Siqueira JF Jr., Rôças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol and Endod.* 2004; 97(1):85-94.
22. Subramanian K, Mickel AK. Molecular analyses of persistent periradicular lesions and root ends reveals a diverse microbial profile. *J Endod.* 2009; 35(7):950-957.
23. Gutknecht N, Moritz A, Conrads G, Sievert T, Lampert F. Bactericidal effect of the Nd: YAG laser in vitro root canal. *J Clin Laser Med Surg.* 1996; 14(2):77-80.
24. Gomes BP, Martinho FC, Vianna ME. Comparison of 2,5% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine gel on oral bacterial lipopolysaccharide reduction from primarily infected root canals. *J Endod.* 2009; 35(10):1350-1353.
25. Siqueira Jr. JF, Rôças JF, Paiva SS, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod.* 2007; 104(1):104-122.
26. Oliveira DP, Barbizam JV, Trope M, Teixeira FB. In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *enterococcus faecalis*. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod.* 2007; 103(5):702-706.
27. Dornelles-Morgental R, Guerreiro-Tonomaru JM, Faria-Júnior NB, Hungaro-Duarte MA. Antibacterial efficacy of endodontic

irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with enterococcus faecalis. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod.* 2011; 112(3):396-400.

28. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod.* 2004; 97(1):79-84.
29. Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod.* 2001; 27:452-455.
30. Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. *Braz Dent J.* 2007; 18(4): 294-298.
31. Mohammadi Z, Abbott PV. Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: a review. *Aust Endod J.* 2009; 35(3):131-139.
32. Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate enterococcus faecalis. *J Endod.* 2010; 36(3):520-523.
33. Fonseca MB, Júnior PO, Pallota RC, Filho HF, Denardin OV, Rapoport A et al. Photodynamic therapy for root canals infected with enterococcus faecalis. *Photomed Laser Surg.* 2008; 26(3):209-213.
34. Siqueira Jr. JF, Rôças JF. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008; 34(11):1291-1301.

## REFERÊNCIAS

ARIAZ-MOLIZ, M. T.; FERRER-LUQUE, C. M.; ESPIGARES-GARCÍA, M.; BACA, P. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod*, Ottawa, v. 35, n. 5, p. 711-714, 2009.

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

ATHANASSIADIS, B.; ABBOTT, P. V.; WALSH, L. J. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J*, Canberra, v. 52, n. 1, p. 64-82, 2007.

CAMPS, J.; POMMEL, L.; AUBUT, V.; VERHILLE, B; SATOSHI, F.; LASCOLA, B.; ABOUT, I. Shelf life, dissolving action, and antibacterial activity of a neutralized 2,5% sodium hypochlorite solution. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod*, Washington, v. 108, n. 2, p. 66-73, 2009.

CHANG, Y. C.; HUANG, F. M.; TAI, K. W.; CHOU, M. Y. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod*, Washington, v. 92, n. 4, p. 446-50, 2001.

DEWSNUP, N.; PILEGGI, R.; HADDIX, J.; NAIR, U.; WALKER, C.; VARELLA, C. H. Comparison of bacterial reduction in straight and curved canals using erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser treatment versus a traditional irrigation technique with sodium hypochlorite. *J Endod*, Ottawa, v. 36, n. 4, p. 725-728, 2010.

DORNELLES-MORGENTAL, R.; GUERREIRO-TONOMARU, J. M.; FARIA-JÚNIOR, N. B.; HUNGARO-DUARTE, M. A. Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root

canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod*, Washington, v. 112, n. 3, p. 396-400, 2011.

ERCAN, E.; OZEKINCI, T.; ATAKUL, F.; GÜL, K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *J Endod*, Ottawa, v. 30, n. 2, p. 84-7, 2004.

FERRAZ, C. C. R.; GOMES, B. P. F. A.; ZAIA, A. A.; TEIXEIRA, F. B.; SOUZA-FILHO, F. J. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod*, Ottawa, v. 27, p. 452-455, 2001.

\_\_\_\_\_.; GOMES, B. P. F. A.; ZAIA, A. A.; TEIXEIRA, F. B.; SOUZA-FILHO, F. J. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. *Braz Dent J*, Ribeirão Preto, v. 18, n. 4, p. 294-298, 2007.

FONSECA, M. B.; JÚNIOR, P. O.; PALLOTA, R. C.; FILHO, H. F.; DENARDIN, O. V.; RAPOPORT, A.; DEDIVITIS, R. A.; VERONEZI, J. F.; GENOVESE, W. J.; RICARDO, A. L. Photodynamic therapy for root canals infected with *enterococcus faecalis*. *Photomed Laser Surg*, Bruxelas, v. 26, n. 3, p. 209-213, 2008.

GARCEZ, A. S.; NUÑEZ, S. C.; HAMBLIM, M. R.; SUZUKI, H.; RIBEIRO, M. S. Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. *J Endod*, Ottawa, v. 36, n. 9, p. 1463-1466, sep. 2010.

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

\_\_\_\_\_.; MARTINHO, F. C.; VIANNA, M. E. Comparison of 2,5% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine gel on oral bacterial

lipopolysaccharide reduction from primarily infected root canals. *J Endod*, Ottawa, v. 35, n. 10, p. 1350-1353, 2009.

GRÜNDLING, G. L.; ZECHIN, J. G.; JARDIM, W. M.; OLIVEIRA, S. D. de; FIGUEIREDO, J. A. de. Effect of ultrasonics on *Enterococcus faecalis* biofilm in a bovine tooth model. *J Endod*, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 1128-1133, 2011.

GUTKNECHT, N.; MORITZ, A.; CONRADS, G.; SIEVERT, T.; LAMPERT, F. Bactericidal effect of the Nd: YAG laser in vitro root canal. *J Clin Laser Med Surg*, Washington, v. 14, n. 2, p. 77-80, 1996a.

\_\_\_\_\_.; KAISER, F.; HASSAN, A.; LAMPERT, F. Long-term clinical evaluation of endodontically treated teeth by Nd:YAG lasers. *J Clin Laser Med Surg*, Washington, v. 14, n. 1, p. 7-11, fev. 1996b.

\_\_\_\_\_.; FRANZEN, R.; MEISTER, J.; VANWEERSCH, L.; MIR, M. Temperature evolution on human teeth root surface after diode laserassisted endodontic treatment. *Lasers in Medical Science*, Vancouver, v. 20, n. 9, p. 99-103, jul. 2005.

HAAPASALO, M.; ORSTAVIK, D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res*, Washington, v. 66, n. 8, p. 1375-1379, 1987.

\_\_\_\_\_.; ENDAL, U.; ZANDI, H.; COIL, J. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endod Top*, Vancouver, v. 10, p. 71-102, 2005.

\_\_\_\_\_.; WEI, Q.; PORTENIER, I., WALTIMO, T. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod*, Ottawa, v. 33, n. 8, p. 917-925, 2007.

HELING, I.; CHANDLER, N. P. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. *Int Endod J*, London, v. 31, n. 1, p. 8-14, 1998.

HMUD, R.; KAHLER, W. A.; GEORGE, R.; WALSH, L. J. Cavitation Effects in Aqueous Endodontic Irrigants Generated by

Near-infrared Lasers. *J Endod*, Ottawa, v. 36, n. 2, p. 275-278, feb. 2010a.

\_\_\_\_.; \_\_\_\_.; WALSH, L. J. Temperature changes accompanying near infrared diode laser endodontic treatment of wet canals. *J Endod*, Ottawa, v. 36, n. 5, p. 908-911, may 2010b.

JEANSONNE, M. J.; WHITE, R. R. A comparison of 2,0% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod*, Ottawa, v. 2, n. 6, p. 276-81, 1994.

KÖRSTGENS, V.; FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J.; BORCHARD W. Uniaxial compression measurement device for investigation of the mechanical stability of biofilms. *J Microbiol Methods*, Ottawa, v. 46, n. 1, p. 9-17, jul. 2001.

MADIGAN, M. T.; MADINGO, J. M.; PARKER, J. *Microbiologia de Brock*. 10. ed. São Paulo: Person Prentice-Hall, 2004. 608 p.

MARCHESAN, M. A.; BRUGNERA-JUNIOR, A.; OZORIO, J. E.; PÉCORÁ, J. D.; SOUSA-NETO, M. D. Effect of 980-nanometer diode laser on root canal permeability after dentin treatment with different chemical solutions. *J Endod*, Ottawa, v. 34, n. 6, p. 721-724, jun. 2008.

MOHAMMADI, Z.; ABBOTT, P. V. Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: a review. *Aust Endod J*, Canberra, v. 35, n. 3, p. 131-139, 2009.

MOLANDER, A.; REIT, C.; DAHLÉN, G.; KVIST, T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*, London, v. 31, n. 1, p. 1-7, 1998.

NAIR, P. N. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod*, Ottawa, v. 13, n. 1, p. 29-39, 1987.

\_\_\_\_.; HENRY, S.; CANO, V.; VERA, J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod*, Washington, v. 99, n. 2, p. 231-252, 2005.

OLIVEIRA, D. P.; BARBIZAM, J. V.; TROPE, M.; TEIXEIRA, F. B. In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod*, Washington, v. 103, n. 5, p. 702-706, 2007.

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

PELKA, M.; PETSCHERT, A. Permanent mimic musculature and nerve damage caused by sodium hypochlorite: a case report. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod*, Washington, v. 106, n. 3, p. 80-83, 2008.

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

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

RIOS, A.; HE, J.; GLICKMAN, G. N.; SPEARS, R.; SCHNEIDERMAN, E. D.; HONEYMAN, A. L. Evaluation of photodynamic therapy using a light-emitting diode lamp against *enterococcus faecalis* in extracted human teeth. *J Endod*, Ottawa, v. 37, n. 6, p. 856-859, jun. 2011.

ROÇAS, I. N.; SIQUEIRA JR., J. F.; SANTOS, K. R. Association of *enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod*, Ottawa, v. 30, n. 5, p. 315-320, 2004.

SAFAVI, K. E.; SPANBERG, L. S.; LANGELAND, K. Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endod*, Ottawa, v. 16, n. 5, p. 207-210, 1990.

SEDGLEY, C. M.; LENNAN, S. L.; APPELBE, O. K. Survival of enterococcus faecalis in root canals ex vivo. *Int Endod J*, London, v. 38, n. 10, p. 735-4, 2005.

SEN, B. H.; SAFAVI, K. E.; SPANGBERG, L. S. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *J Endod*, Ottawa, v. 25, n. 4, p. 235-8, 1999.

SENA, N. T.; GOMES, B. P.; VIANNA, M. E.; BERBER, V. B.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C.; SOUZA-FILHO, F. J. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected singlespecies biofilms. *Int Endod J*, London, v. 39, n. 11, p. 878-85, 2006.

SIQUEIRA JR., J. F.; RÔÇAS, I. N. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod*, Washington, v. 97, n. 1, p. 85-94, 2004.

\_\_\_\_\_.; RÔÇAS, J. F.; PAIVA, S. S.; GUIMARÃES-PINTO, T.; MAGALHÃES, K. M.; LIMA, K. C. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod*, Washington, v. 104, n. 1, p. 104-122, jul. 2007.

\_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod*, Ottawa, v. 34, n. 11, p. 1291-1301, nov. 2008.

SOARES, I. J.; GOLDEMBERG, F. *Endodontia: técnica e fundamentos*. Porto Alegre: Artmed, 2001.

SOUZA, E. B.; CAI, S.; SIMIONATO, M. R.; LAGE-MARQUES, J. L. High-power diode laser in the disinfection in depth of the root canal dentin. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod*, Washington, v. 106, n. 1, p. 68-72, jul. 2008.

SOUZA, L. C.; BRITO, P. R.; OLIVEIRA, J. C. de; ALVES, F. R.; MOREIRA, E. J.; SAMPAIO-FILHO, H. R.; RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA

JR., J. F. Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intracanal reduction of enterococcus faecalis. *J Endod*, Ottawa, v. 36, n. 2, p. 292-296, feb. 2010.

SOUZA-FILHO, F. J.; SOARES, A. J.; VIANNA, M. E.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. R.; GOMES, B. P. F. A. Antimicrobial effect and pH of chlorexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. *Braz Dent J*, Ribeirão Preto, v. 19, n. 1, p. 28-33, 2008.

SUBRAMANIAN, K.; MICKEL, A. K. Molecular analyses of persistent periradicular lesions and root ends reveals a diverse microbial profile. *J Endod*, Ottawa, v. 35, n. 7, p. 950-957, 2009.

SUNDQVIST, G. Ecology of the root canal flora. *J Endod*, Ottawa, v. 18, n. 9, p. 427-430, 1992.

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

TANOMARU-FILHO, J. M.; LEONARDO, M. R.; SILVA, L. A.; ANÍBAL, F. F.; FACCIOLI, L. H. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *Int Endod J*, London, v. 35, n. 9, p. 735-39, 2002.

\_\_\_\_.; \_\_\_\_.; TANOMARU-FILHO, M.; SILVA, L. A.; ITO, I. Y. Microbial distribution in the root canal system after periapical lesion induction using different methods. *Braz Dent J*, Ribeirão Preto, v. 19, n. 2, p. 124-9, 2008.

TIRALI, R. E.; TURAN, Y.; AKAL, N.; KARAHAN, Z. C. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of NaOCl and octenisept in elimination of endodontic pathogens. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod*, Washington, v. 108, n. 5, p. 117-120, nov. 2009.

VIANNA, M. E.; GOMES, B. P.; BERBER, V. B.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C.; SOUZA-FILHO, F. J. de. In vitro evaluation of the

antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod*, Washington, v. 97, n. 1, p. 79-84, 2004.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE 1 – Análise estatística

Class Levels Values

grupo 3 0 1 4

REP 19 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 17 18 19 20

NUMBER OF OBSERVATIONS 45

Dependent Variable: log10

R-Square Coeff Var Root MSE log10 Mean  
0.991168 4.284880 0.065766 1.534832

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for log10

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05

Error Degrees of Freedom 42

Error Mean Square 0.004325

Critical Value of Studentized Range 3.43582

Minimum Significant Difference 0.0583

Means with the same letter are not significantly different.

*Teste de Tukey a 5% de significância.*

<b>Grupos</b>	<b>n</b>	<b>UFC em Log10</b>	<b>UFC</b>	<b>Redução (%)</b>	<b>Erradicação</b>
CONTROLE	15	2,49±	296,73	-	-
POSITIVO		0,017 A			
G1	15	1,04±	1,27	99,57	7/15
		0,088 B			
G2	15	1,08 ±	2,07	99,30	1/15
		0,071 B			

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

## CAPÍTULO II

Class Levels Values

grupo 6 0 1 2 3 4 5

REP 20 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

Number of observations 120

R-Square Coeff Var Root MSE log10 Mean

0.616205 25.32382 0.381365 1.505953

TUKEY'S STUDENTIZED RANGE (HSD) TEST FOR LOG10

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05

Error Degrees of Freedom 114

Error Mean Square 0.145439

Critical Value of Studentized Range 4.09949

Minimum Significant Difference 0.3496

*LOG CFU and reduction in relation ao GC+.*

<b>Grupos</b>	<b>UFC/ml em Log10</b>	<b>Redução (%)</b>	<b>Erradicação (%)</b>
GC+	2,43 <sup>C</sup> ± 0,11		-
GNaOCl	1,25 <sup>A</sup> ± 0,45	89,82	35
GNaOCl/L	1,04 <sup>A</sup> ± 0,13	99,42	85
GCHX	1,36 <sup>A</sup> ± 0,53	81,86	5
GCHX/L	1,18 <sup>A</sup> ± 0,37	93,48	40
GSORO/L	1,78 <sup>B</sup> ± 0,48	65,40	5

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

## **APÊNDICE 2 – Preparo dos canais - Capítulo II**

Em todos os grupos, determinou-se como comprimento de trabalho (CT) 12 mm, em vista da opção por não realizar patência foraminal, bem como pelo fato de todas as amostras estarem impermeabilizadas externamente com cianocrilato (Super Bonder®, Loctite Henkel, Itapevi, SP, Brasil).

Em todas as amostras dos grupos, durante o preparo mecânico do canal radicular, os instrumentos rotatórios e manuais, foram inseridos no interior do conduto principal até o comprimento de trabalho e inclinados uma vez em cada face da raiz, por exemplo: uma vez em sentido vestibular, uma em sentido lingual, mesial e distal.

Sequência da utilização de limas no preparo dos canais:



*Suporte de latão para sustentação das amostras.*

Grupo NaOCl (n=20), foi realizada instrumentação híbrida com sistema rotatório Protaper (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça), com as limas SX, F2 e F3 e limas manuais tipo KF tamanho # 35 e # 40 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça). Procedeu-se a irrigação com 4 ml de solução de NaOCl 2,5% (Natupharma, CRF 2288, Passo Fundo-RS-Brasil). A cada troca de instrumento, totalizando 20 ml de solução de

NaOCl a 2,5% para cada amostra, por meio da técnica coroa-ápice, e irrigação final com 5 ml de EDTA-T 17% (Fórmula & Ação, São Paulo-SP, Brasil), enxaguados com 5 ml de soro fisiológico e secados com pontas de papel absorvente esterilizadas (Tanari®, Manacapuru, AM, Brasil).

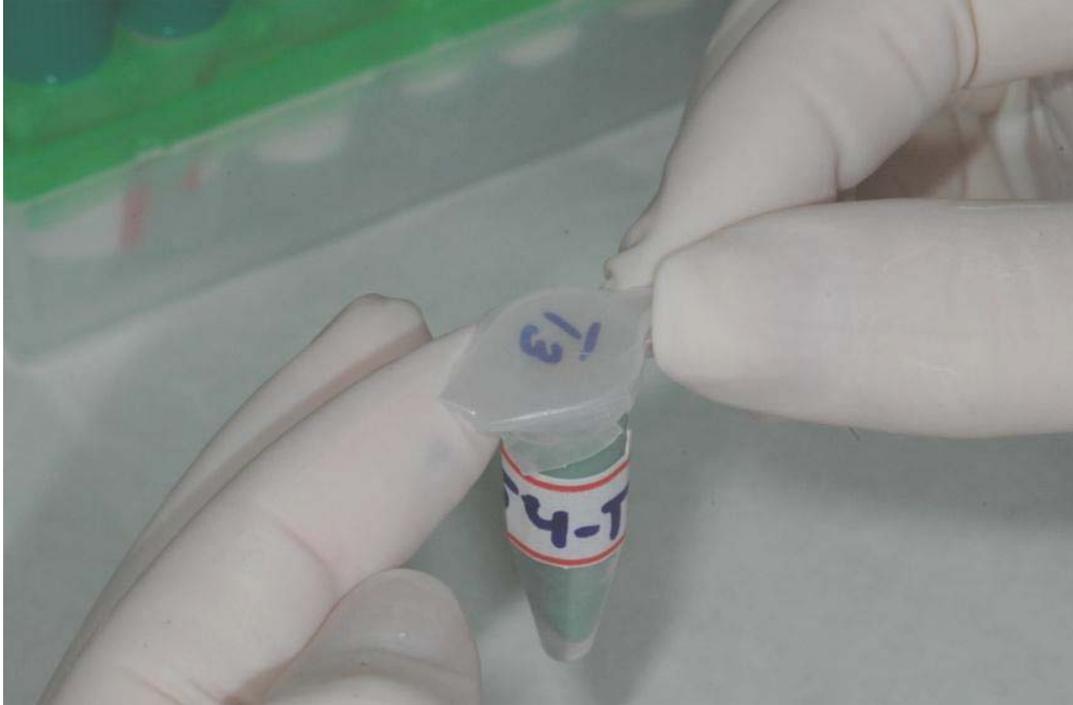
Grupo NaOCl/L (n=20), foi realizada instrumentação híbrida como no NaOCl. Após, as amostras foram irradiadas com laser de diodo (Opus 10, Sharplan, UK) do Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO), da Universidade de São Paulo (USP), com 830 nm, infravermelho, e 3 W de potência em modo contínuo, por meio da técnica de movimentos helicoidais desenvolvida por Gutknecht *et al.* (29), posicionando a fibra 1mm aquém do comprimento de trabalho e recuando com velocidade de aproximadamente 2 mm/s, com duração de 5 s cada aplicação, com quatro repetições em intervalos de 10 s entre uma e outra.

Grupo CHX (n=20), procedeu-se a instrumentação híbrida da mesma forma que os grupos anteriores, utilizando 1vml de gel de clorexidina a 2% (Clean Form 2% gel, Fórmula & Ação, São Paulo-SP, Brasil) anterior a cada instrumento e irrigação com 5 ml de soro fisiológico a cada troca de instrumento, totalizando 5 ml de gel e irrigação com 20 ml de soro fisiológico cada amostra, e irrigação final com 5 ml de EDTA-T 17% (Fórmula & Ação, São Paulo-SP, Brasil), enxaguados com 5 ml de soro fisiológico e secados com pontas de papel absorvente esterilizado (Tanari®)

No Grupo CHX/L (n=20), foi realizada instrumentação híbrida conforme o grupo CHX, e após, aplicou-se o mesmo protocolo da irradiação com laser do NaOCl/L.

No Grupo SORO/L (n=20), foi realizada instrumentação híbrida e irrigação conforme os demais grupos, mas a única substância irrigadora utilizada foi soro fisiológico, não utilizando EDTA- T a 17%, totalizando 30 ml de solução fisiológica e secos com pontas de papel absorvente esterilizadas (Tanari®), seguindo o mesmo protocolo de irradiação com laser dos grupos NaOCl/L e CHX/L.

### APÊNDICE 3 – Amostra lacrada após ringer



**APÊNDICE 4 – Resultados da contagem dos *E. faecalis*  
pós-tratamento em duplicata, conforme cada grupo do**

**Capítulo II**

*Grupo controle positivo GC +*

<b>Controle</b>	<b>1</b>	300	22	161	2,206826
<b>Controle</b>	<b>2</b>	300	1	150,5	2,177536
<b>Controle</b>	<b>3</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>4</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>5</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>6</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>7</b>	300	103	201,5	2,304275
<b>Controle</b>	<b>8</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>9</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>10</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>11</b>	300	103	201,5	2,304275
<b>Controle</b>	<b>12</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>13</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>14</b>	287	300	293,5	2,467608
<b>Controle</b>	<b>15</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>16</b>	156	109	132,5	2,122216
<b>Controle</b>	<b>17</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>18</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>19</b>	300	300	300	2,477121
<b>Controle</b>	<b>20</b>	300	215	257,5	2,410777

*Controle de esterilidade*

<b>Amostra</b>	<b>Branco</b>	
	<b>A</b>	<b>B</b>
B1	0	0
B2	0	0
B3	0	0
B4	0	0
B5	0	0
B6	0	0
B7	0	0
B8	0	0
B9	0	0
B10	0	0

Amostra	G NaOCl	
	A	B
1	1	0
2	1	>300
3	0	0
4	6	0
5	2	1
6	1	0
7	0	0
8	9	12
9	14	>300
10	0	0
11	1	0
12	46	>300
13	0	0
14	4	3
15	0	0
16	0	0
17	1	0
18	1	0
19	66	10
20	0	0

<b>Amostra</b>	<b>G NaOCl/L</b>	
	<b>A</b>	<b>B</b>
41	0	0
42	0	0
43	0	0
44	6	3
45	0	0
46	0	0
47	0	0
48	0	0
49	0	0
50	0	0
51	0	0
52	0	1
53	0	0
54	0	51
55	0	0
56	0	0
57	0	0
58	0	0
59	0	0
60	0	0

<b>Amostra</b>	<b>G CHX</b>	
	<b>A</b>	<b>B</b>
61	3	1
62	1	0
63	0	3
64	34	24
65	0	0
66	5	0
67	2	0
68	>300	>300
69	3	3
70	2	1
71	1	3
72	>300	>300
73	3	3
74	1	0
75	6	12
76	1	4
77	>300	0
78	>300	2
79	1	0
80	1	2

Amostra	G CHX/L	
	A	B
81	0	0
82	0	0
83	1	1
84	4	1
85	10	13
86	11	1
87	4	0
88	0	0
89	0	1
90	0	1
91	7	8
92	0	0
93	0	0
94	8	>300
95	0	0
96	8	>300
97	0	0
98	11	0
99	0	0
100	0	1

<b>Amostra</b>	<b>G NaCL/L</b>	
	<b>A</b>	<b>B</b>
21	>300	268
22	66	71
23	72	50
24	>300	>300
25	89	50
26	67	67
27	>300	>300
28	3	1
29	254	232
30	36	22
31	1	5
32	0	0
33	46	14
34	25	13
35	68	63
36	10	8
37	15	10
38	154	148
39	45	11
40	94	88

## Artigo I submetido

RFO UPF

---

Revista da Faculdade de Odontologia Universidade de Passo Fundo

Passo Fundo, 29 de fevereiro de 2012.

Prezados Autores

Informamos que recebemos no dia 18 de janeiro de 2012 o artigo intitulado “**Ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 2,5% e clorexidina gel 2% em raízes contaminadas com enterococcus faecalis**” da autoria de Tiago Lange dos Santos, Eduardo Dall’Magro, Alessandra Kuhn-Dall’Magro, Bruna Corrêa, Bruna Marin Fronza e Fernanda Colla. O mesmo fica registrado sob número **688** e foi encaminhado para avaliação pelo Conselho Científico da RFO.

Observação: os conselheiros poderão indicar correções ou sugerir modificações quantas vezes forem necessárias. Após realizadas as correções ou modificações do artigo pelos autores, o mesmo poderá receber parecer desfavorável para publicação se as mesmas não forem consideradas satisfatórias pelos revisores.

Cordialmente,

Álvaro Della Bona e João Paulo De Carli  
Coordenadores de Editoração

---

99001-979 - Caixa Postal 611 – Passo Fundo – RS  
Fone (54) 3316-8404 – Fax (54) 3316-8403  
E-mail: [revfo@upf.br](mailto:revfo@upf.br)

## Artigo II submetido

Elsevier Editorial System(tm) for Journal of Endodontics  
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: EFFECTIVENESS OF HIGH-POWER DIODE LASER ASSOCIATED TO CHEMICAL AUXILIARY SUBSTANCE ON DECONTAMINATION OF ROOT CANAL SYSTEM INFECTED WITH ENTEROCOCCUS FAECALIS - AN IN VITRO STUDY

Article Type: Basic Research - Technology

Keywords: diode laser; sodium hypochlorite; chlorhexidine; Enterococcus faecalis.

Corresponding Author: Mr. TIAGO LANGE DOS SANTOS, MSc.

Corresponding Author's Institution: Universidade de Passo Fundo

First Author: TIAGO LANGE DOS SANTOS, MSc.

Order of Authors: TIAGO LANGE DOS SANTOS, MSc.; LUCIANA R DOS SANTOS, PhD; ALESSANDRA K DALL MAGRO, MSc.; MATHEUS A SOUZA, MSc.; FERNANDA COLLA, STUDENT OF VETERINARY MEDICINE; FABIANA V VIER-PELISSER, PhD; EDUARDO DALL MAGRO, PhD

Manuscript Region of Origin: Latin & South America

Abstract: ABSTRACT

Introduction: to evaluate the additional antibacterial action of high-power diode laser after the use of 2,5% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine gel in root canals infected with E. faecalis. Methods: 120 human teeth with single canal were inoculated with E. faecalis for 14 days and randomly divided into six groups (n=20), according the chemical auxiliary substance used in the chemomechanical preparation and the use of high-power diode laser: G1(NaOCl) - root canal preparation with 2,5% sodium hypochlorite; G2(CHX) - root canal preparation with 2% chlorhexidine gel; G3(NaOCl+DL) - root canal preparation with 2,5% sodium hypochlorite+diode laser; G4(CHX+DL) - root canal preparation with 2% chlorhexidine gel+diode laser; G5(NaCl+DL) - root canal preparation with 0,9% saline solution+diode laser; G6(no treatment) - no

treatment was performed. Microbiological test (CFUs counting) was performed to evaluate the effectiveness of proposed treatments. Data were subjected to One-way Anova followed by post-hoc Tukey test ( $\alpha=0.05$ ). Results: G3(NaOCl+DL) had reduction of 99,42% of E.faecalis, followed by G4(CHX+DL) – 93,48%; G1(NaOCl) – 89,82%; G2(CHX) – 81,86%; G5(NaCl+DL) – 65,40%; and G6(no treatment) - no reduction. There was significant statistical difference in CFUs of all groups in relation to G6 (no treatment)( $p<0.05$ ). G1(NaOCl), G2(CHX), G3(NaOCl+DL) and G4(CHX+DL) were statistically superior to G5(NaCl+DL) ( $p<0,05$ ). Conclusion: high-power diode laser, when associated to 2,5% NaOCl and 2% CHX, improves the antimicrobial effect on root canals infected E.faecalis.

**Author's Decision**

---

Thank you for approving "EFFECTIVENESS OF HIGH POWER DIODE LASER ASSOCIATED TO CHEMICAL AUXILIARY SUBSTANCE ON DECONTAMINATION OF ROOT CANAL SYSTEM INFECTED WITH ENTEROCOCCUS FAECALIS AN IN VITRO STUDY".

---

[Main Menu](#)