RAQUEL ESMERALDA GUILLEN GUILLEN

**Remoção mecânica de *Enterococcus faecalis* em canais preparados com
Wave One Gold ou One Shape New Generation**

São Paulo

2018

RAQUEL ESMERALDA GUILLEN GUILLEN

**Remoção mecânica de *Enterococcus faecalis* em canais preparados com
Wave One Gold ou One Shape New Generation**

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutora, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dr. Manoel Eduardo de Lima Machado

São Paulo

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Guillen, Raquel Esmeralda Guillen.

Remoção mecânica de *Enterococcus faecalis* em canais radiculares instrumentados com Wave One Gold ou One Shape New Generation / Raquel Esmeralda Guillen Guillen ; orientador Manoel Eduardo de Lima Machado -- São Paulo, 2018.

102 p. : fig., tab., graf.; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Dentística. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida

1. Endodontia. 2. *Enterococcus faecalis*. 3. Instrumentação do canal radicular. I. Machado, Manoel Eduardo de Lima. II. Título.

Guillen REG. Remoção mecânica de *Enterococcus faecalis* em canais radiculares instrumentados com Wave One Gold ou One Shape New Generation. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Odontologia.

Aprovado em: ____ / ____ /2018

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

*A realização da minha tese chegou a um final feliz. Dedico ao **meu irmão Paco**, que há tanto tempo não está conosco, mas, agora com certeza sei que logo voltaremos a nos ver, se ele ainda estivesse aqui ficaria muito feliz e orgulhoso por esta minha meta cumprida. Aos **meus sobrinhos** que estão começando a faculdade, lembrem-se que tudo se consegue com a ajuda do Céu.*

AGRADECIMENTOS

Terminar a tese de doutorado tem exigido muita determinação, esforço, gratificações e aprendizagens. Não teria sido possível sem aquelas pessoas que tanto admiro e tem me ajudado.

*Quero agradecer primeiramente a **Deus** por me dar força no dia a dia e me abençoar tanto.*

*“O toque de um professor transforma vidas, e essas vidas transformam nações”, por isso agradeço ao **professor Machado**, que compartilhou todo seu conhecimento com generosidade e disposição sempre, não só abrindo as portas do seu conhecimento, mas também as portas de seu lar. Obrigada a sua esposa **Soraya Beyruth** pela boa disposição comigo sempre.*

*Ao **Cleber**, pelo apoio incondicional e o companheirismo, não é só um grande Doutor, mas é um excelente ser humano, que sem interesse oferece seus conhecimentos e ajuda a todos. Admiro sua bondade e inteligência, obrigada por compartilhar comigo.*

*Ao **Hector**, sendo tão novo já está no Doutorado, sem dúvida chegará longe. Obrigada pelo apoio, por seu tempo, sua companhia entre cafés e laboratórios, e por tirar minhas dúvidas.*

*À minha **família**, o pilar incondicional. Ao meu amado esposo **Pablo**, por me dar apoio fundamental todo tempo. Isto foi uma prova de fogo, onde nosso amor se fortaleceu com a distância. Seu amor me deu a tranquilidade emocional que eu precisava para morar longe e fazer o meu estudo. Seu amor me faz ser melhor.*

*À minha princesa de cabelos brancos, **América**, minha mãe, ao meu pai **Felix**, pelas orações e apoio em toda minha vida e formação, suas palavras em momento de fraqueza me conforta. Aos meus Irmãos por estar sempre presentes e enviar palavras de força.*

*À **professora Silvana Cai**, obrigada por toda a paciência e por disponibilizar*

seu laboratório para minha pesquisa.

Aos meus professores do Dinter que são doutores de grande renome no mundo da Endodontia e que foram ao Equador compartilhar seus conhecimentos, obrigada aos professores **Giulio Gavini, Celso Caldeira, Marcelo dos Santos, Ericka Pinheiro e Carla Sipert**. Fico muita honrada de ter sido aluna de todos vocês.

Quero agradecer à professora **Márcia Marques** pela direção bem acertada no nosso Dinter, pelo carinho, apoio e bons desejos. Ela sempre trabalhou forte pelos equatorianos, fico muito agradecida.

À minha **Universidade Central do Equador** que me dá tanto. Tenho muito orgulho de ser parte dela. Obrigada ao querido reitor **Fernando Sampertegui** por fazer possível este sonho, à minha querida decana **Blanca Real** pela força e luta que faz dia a dia para nos ajudar no doutorado, e ao meu querido **Alejandro Farfam** por todos os seus conselhos. Obrigada ao **Jorge Naranjo** meu subedcano, à **Paulina e Amparito** pela ajuda na Universidade.

À **Universidade de São Paulo** que fica entre as 21 melhores universidades do mundo, obrigada por fazer possível o Dinter e permitir o meu doutoramento, com certeza sem vocês não conseguiríamos realizar este sonho.

Falam que há anjos por onde caminhamos, e eu aqui em São Paulo encontrei pessoas muito parecidas a eles, **Dora e sua família**, obrigada pelo abrigo, companhia nos longos feriados, abraços e orações todo este tempo.

Aos meus **colegas do Equador** que estão fazendo o doutorado, obrigada por compartilhar seu tempo e companhia neste tempo de estudo no Brasil, em especial ao **Ivan e Diego**, obrigada pela atenção. Aos meus colegas do Brasil, **Thais, Kareen, Jimena, Marco, Helen, Márcia, Regina e Fátima**, obrigada pela companhia e bons momentos durante as clínicas.

À toda equipe do meu consultório Odontoprofile. Obrigada pela segurança e a tranquilidade. **Sofi, Vivi, Chris e Dany**, sei que chegarão longe e logo estaremos novamente juntas fazendo o que nos apaixona, a **Odontologia**. **Sem vocês eu não teria terminado o meu doutorado.** Aos meus doutores **Majo, Andres, Angel, Alejandra, David e Adri**, obrigada pelo tempo e dedicação ao consultório. Ao

Gonzalo Coronel obrigada pelo apoio e palavras cheias de bom desejos para mim.

À **Adriana** pelas longas conversas por “chat” cheias de positivismo e boa energia. Obrigada sempre! Ela sempre teve as frases certas nos momentos difíceis. À **Silvana** minha colega e amiga.

Agradeço à **Acecil** por ter providenciado a esterilização das amostras deste estudo e a **Dentsply-maillefer** bem como à **Micromega** por ter fornecido os instrumentos rotatórios.

Finalmente, quero agradecer a todos os funcionários da FOUSP, **Alessandra, Cátia e Carlos** da pós-graduação, **David, Aldo e Selma** do departamento de dentística, **Glauci e Agnaldo** da biblioteca, que sempre estiveram ali para me ajudar.

“O que fazemos na vida ecoa na eternidade”

Máximo Décimo Meridio

RESUMO

Guillen REG. Remoção mecânica de *Enterococcus faecalis* em canais preparados com Wave One Gold ou One Shape New Generation. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Corrigida

O preparo do canal radicular visa a remoção de bactérias que podem causar a patologia periapical, e os instrumentos endodônticos estão sendo constantemente aprimorados para tornar o tratamento do canal radicular mais fácil, rápido e seguro. Assim, novos instrumentos precisam ser avaliados quanto ao seu desempenho. O objetivo deste estudo foi avaliar a remoção bacteriana dos sistemas Wave One Gold e One Shape New Generation comparando-os com seus sistemas predecessores. Cinquenta e seis canais disto vestibulares de molares superiores esterilizados por oxido de etileno foram contaminados com *Enterococcus faecalis* por 21 dias, e então uma amostra bacteriana inicial foi coletada e paqueada em M-*enterococcus* agar para contagem bacteriana em unidades formadoras de colônias. Os espécimes foram aleatoriamente divididos em quatro grupos de acordo com a instrumentação (n=12): Wave One Gold Primary, One Shape New Generation 25/.06, Wave One Primary e One Shape 25/.06, e os outros 8 canais não contaminados foram o controle de assepsia. Todos os grupos utilizaram água destilada como irrigante. Nova coleta foi feita imediatamente após a instrumentação e aos 7 dias. A redução bacteriana foi calculada em porcentagem, e então feita análise intragrupo pelo teste de Wilcoxon e entre grupos por Kruskal Wallis e teste de Dunn, todos com significância de 5%. Todos os sistemas reduziram significativamente a carga bacteriana do canal radicular tanto na coleta imediata quanto aos 7 dias ($p<0,05$). Houve aumento do número de bactérias 7 dias após o preparo quando comparado com a coleta imediata ($p<0,05$). A análise entre grupos mostrou que Wave One Gold e One Shape New Generation promoveram maior redução bacteriana que os sistemas Wave One e One Shape ($p<0,05$), sem diferença significativa entre Wave One Gold e One Shape New Generation ou entre Wave One e One Shape ($p>0,05$). Conclui-se que Wave One Gold e One Shape New Generation promoveram maior remoção bacteriana do que seus sistemas predecessores.

Palavras-Chave: Endodontia, *Enterococcus faecalis*, Instrumentação do canal radicular

ABSTRACT

Guillen REG. Mechanical removal of *Enterococcus faecalis* in root canals instrumented using Wave One Gold or One Shape New Generation. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Corrigida

The root canal preparation aims to remove the bacteria that can cause periapical pathologies, and endodontic instruments are constantly being improved to make root canal treatment easier, faster and safer. Thus, new instruments need to be evaluated for their performance. The aim of this study was to evaluate the bacterial removal promoted by Wave One Gold and One Shape New Generation systems in comparison to that of their predecessor systems. Forty-six distobuccal root canals of upper molars sterilized with ethylene oxide were infected with *Enterococcus faecalis* for 21 days, and then root canal initial bacterial sampling was collected and plated on M-*enterococcus* agar to bacterial count in colony forming unities. The specimens were randomly divided into four groups according to the instrumentation (n=12): Wave One Gold Primary, One Shape New Generation 25/.06, Wave One Primary and One Shape 25/.06, and the other 8 uncontaminated canals were used as asepsis control. All groups used distilled water as irrigant. New sampling was obtained immediately after instrumentation and at 7 days. The bacterial reduction was calculated in percentage, after that intra-group analysis was carried out by Wilcoxon test, and inter-group analysis by Kruskal-Wallis complemented by Dunn's test, all at 5% significance. All the systems significantly reduced the bacterial amount in the root canal in both immediate and at 7 days sampling ($p<0.05$). The bacterial amount increased at 7 days after preparation comparing to immediate sampling ($p<0.05$). The analysis between groups showed that Wave One Gold and One Shape New Generation promoted greater bacterial reduction than Wave One and One Shape systems ($p<0.05$). No significant difference was found between Wave One Gold and One Shape New Generation or between Wave One and One Shape ($p>0.05$). It can be concluded that Wave One Gold and One Shape New Generation promote greater bacterial removal than their predecessor systems.

Keywords: Endodontics, *Enterococcus faecalis*, Root canal instrumentation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 4.1 - Fotografia da padronização (a) Corte sagital, com disco de aço inoxidável da raiz disto vestibular, (b) Corte transversal, com disco de aço inoxidável da raiz disto vestibular	49
Figura 4.2 - (a) Radiografia da raiz no sentido vestibulo lingual (b) Radiografia da raiz no sentido méso distal	50
Figura 4.3 - Fotografia da padronização (a) Comprimento do trabalho em 12 mm, (b) Preparação dos condutos até a lima 15 K.....	51
Figura 4.4 - (a) Fotografias dos Espécimes fixados com resina acrílica, em placas de polietileno.....	52
Figura 4.5 - (a) Fotografia da amostra de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212) mantida em glicerol (b) Fotografia de <i>Enterococcus faecalis</i> inoculada em TSB.....	53
Figura 4.6 - (a) Fotografia dos canais preenchidos com a suspensão de <i>Enterococcus faecalis</i> utilizando uma seringa de insulina (b) Fotografias das placas sendo agitadas no vortex.....	54
Figura 4.7 - (a) Fotografia das amostras com bolinha de algodão estéril na abertura dos canais.....	54
Figura 4.8 - (a) Fotografia da coleta (S1) cones de papel esterilizados de tamanho 15 introduzidos até o comprimento de trabalho.....	55
Figura.4.8.-.(b) Fotografia da coleta (S1) (b) Fotografia da diluição seriada	56
Figura 4.8 - (c) Fotografia das diluições em forma de triplicata no meio de cultura de ágar m- <i>Enterococcus</i>	56

Figura 4.9 - (a) Lima Wave One Primary 25/06 (b) Lima One Shape 25/.06 (c) Lima Wave One Gold Primary 25/07 (d) Lima One Shape New Generation 25/.06	56
Figura 4.10 - (a) Fotografia do preparo dos canais com a lima Wave One Gold (b) Fotografia do preparo dos canais com a lima One Shape New Generation.	57
Figura 4.11 - (a) Fotografia com a lima Hedst��m #25 introduzida no canal (b) Fotografia com as raspas de dentina na lima	58
Figura 4.11 - (b) Fotografia com as raspas de dentina na lima.....	59
Figura 4.12 - (a) Fotografia da lima sendo cortada abaixo do cabo (b) Fotografia da coleta (S2) com os cones de papel e o fragmento da lima no tubo eppendorf.....	59
Figura 4.13 - (a) Fotografia dos canais preenchidos com água destilada (b) Fotografia dos espécimes sendo colocados na estufa.....	60
Figura 4.14 - (a) Fotografia da amostra no meio de cultivo apos o período de incub����o	60
Figura 4.15 - (a) Fotografia da capela de fluxo laminar exposta �� luz ultravioleta	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA	ácido desoxirribonucleico
BHI	brain heart infusion
EDTA	ácido etilenodiamino tetraacético
ISO	International Standard Organization
LAL	lisado de amebocitos de Limulus
LED	diodo emissor de luz
LPS	lipopolissacarídeo
MEV	microscopia eletrônica de varredura
ml	mililitro
mm	milímetro
NiTi	níquel titânio
Ncm	newton centímetro
UFC/ml	unidades formadoras de colônia por mililitro
PUI	irrigação de ultrassônica passiva
qPCR	reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativo
TSB	trypticase soy broth
RPM	rotações por minuto
SAF	Self Adjusting file
TF	Twisted File
µL	microlitro

LISTA DE SÍMBOLOS

%	por cento
°	graus
>	maior
<	menor
°C	graus centigrados

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	25
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	27
2.1	HISTÓRICO DOS SISTEMAS DE LIMA-ÚNICA	27
2.2	ASSEPSIA DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES	34
3	PROPOSIÇÃO.....	47
4	MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1	AMOSTRAGEM E PADRONIZAÇÃO	49
4.2	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	51
4.3	CONTAMINAÇÃO DAS AMOSTRAS	53
4.4	COLETA INICIAL	55
4.6	INSTRUMENTAÇÃO DOS CANAIS	56
4.7	COLETA APÓS INSTRUMENTAÇÃO	57
5	RESULTADOS	63
6	DISCUSSÃO.....	67
7	CONCLUSÕES.....	73
	REFERÊNCIAS	75
	APÊNDICES	83
	ANEXOS	99

1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico se inicia após um diagnóstico apropriado e baseia-se numa sequência de procedimentos desenvolvidos em conjunto para devolver a saúde e função ao elemento dentário. Tais procedimentos iniciam-se com o acesso da câmara pulpar e aos canais radiculares com a proposta de permitir o preparo químico cirúrgico do sistema, concluindo com a obturação. Assim, na presença de necrose e infecção a proposta da terapia está associada à redução dos níveis bacterianos responsáveis pela doença periapical. No âmbito microbiológico, o *Enterococcus faecalis* é um microrganismo de difícil erradicação e isolado frequentemente nos dentes com periodontite apical persistente, constituindo como um excelente modelo experimental nos ensaios relativos a avaliar a desinfecção obtida nas ações incluídas na terapia endodôntica.

Dentro do preparo químico cirúrgico, atualmente observamos uma contínua evolução dos instrumentos endodônticos, desde a introdução da liga e da fabricação de instrumentos manuais de níquel titânio (NiTi) até os sistemas de limas múltiplas acionada em movimento de rotação contínua e limas-únicas que trabalham sob ação de cinemática rotatória contínua ou reciprocante.

A ação destes novos sistemas de lima-única propiciaram benefícios no que se refere à simplificação dos protocolos de instrumentação, facilitando a ação profissional, e mantendo a qualidade do preparo tanto na geometria anatômica do canal radicular como na remoção bacteriana em casos de infecção.

Recentemente, os sistemas de lima-única Wave One e One Shape têm sido modificados com o propósito de melhorar suas propriedades físicas tais como corte, resistência e flexibilidade. Tais modificações estão vinculadas principalmente a tratamentos térmicos aplicados à liga, e a diferentes desenhos na construção. A lima Wave One Gold tem um tratamento térmico posterior à sua fabricação, denominada "Gold" sobre a liga de NiTi M-Wire, o que lhe confere uma maior flexibilidade, além disso, possui secção transversal em forma de paralelogramo que lhe confere um movimento assimétrico ao longo eixo do instrumento. O One Shape New Generation apresenta três diferentes secções ao longo do instrumento como no seu predecessor, no entanto, mesma ideia de três secções, no entanto, a secção localizada nos primeiros milímetros da ponta do instrumento possui três ângulos de corte com três

raios diferentes, além do ângulo helicoidal e espaçamento entre espiras variáveis em toda a parte ativa.

A introdução da tecnologia é constante e aumenta a facilidade e praticidade na Endodontia, porém, os princípios básicos da limpeza e a eliminação de bactérias promovida pelos instrumentos devem ser considerados. Nesse contexto, o efeito das modificações dos instrumentos Wave One e One Shape sobre a remoção bacteriana ainda não tem sido estudada até o presente momento. Assim, fica justificada a elaboração de ensaios que avaliem as limas Wave One Gold e One Shape New Generation sobre a redução bacteriana em canais infectados, pelo qual pode refletir no sucesso do tratamento endodôntico.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Para uma melhor organização e destaque na problemática do estudo, a revisão da literatura está dividida em duas partes. A primeira irá expor o histórico dos sistemas de lima-única, e a segunda parte irá percorrer sobre os diversos estudos relacionados com a limpeza do canal radicular sobre o ponto de vista microbiológico desde as limas manuais até os sistemas automatizados mais recentes.

2.1 HISTÓRICO DOS SISTEMAS DE LIMA-ÚNICA

Roane et al. (1985) propuseram uma técnica que permitia o preparo manual de canais curvos introduzindo o conceito de "força balanceada" que consistia no movimento da lima em 180° no sentido horário e 120° em sentido anti-horário. Com esta ideia, Yared (2008) introduziu o movimento recíprocante através da aplicação da força balanceada nos instrumentos rotatórios Protaper F2, possibilitando a instrumentação automatizada de canais curvos com a utilização de uma única-lima.

Para comprovar os benefícios desta proposta, De Deus et al. (2010a) avaliaram a fadiga cíclica da lima Protaper F2 em movimentos recíprocante e em rotação contínua em canais artificiais de aço inoxidável, e observaram que o movimento recíprocante permite maior tempo de vida da lima. Seguindo as avaliações, o mesmo grupo, De Deus et al. (2010b) compararam a remoção de matéria orgânica em canais radiculares circulares e ovais de incisivos inferiores preparados com lima-única Protaper F2 em movimento recíprocante e a sequência completa do sistema Protaper em rotação contínua. Após o preparo de dentes recém extraídos com polpa viva, o tecido pulpar residual das amostras foi observada, demonstrando não haver diferença entre as técnicas aplicadas em canais circulares, no entanto, a sequência completa do sistema Protaper em rotação contínua promoveu melhor limpeza que a lima-única recíprocante F2 em canais ovais.

You et al. (2010) investigaram *in vitro* o número de usos e o tempo de preparo do Protaper F2 em movimento recíprocante, comparando-o com a sequência rotatória completa do sistema Protaper. O Protaper F2 em movimento recíprocante foi utilizado

até a fratura em canais curvos de molares superiores e inferiores, e outra parte da amostragem foi utilizada para calcular o tempo de preparo entre os sistemas. Os resultados demonstraram que o Protaper F2 em movimento reciprocante pode ser usado com segurança até pelo menos seis vezes em canais curvos, e que os preparos com esta lima foram mais rápidos do que a sequencia rotatória completa do Protaper.

Varela-Patiño et al. (2010) estudaram *in vitro* a influência dos movimentos reciprocante e de rotação contínua dos instrumentos Protaper sobre a ocorrência de fraturas em canais radiculares curvos de molares superiores. Os resultados demonstraram que os instrumentos Protaper em movimento reciprocante gera maior número de usos do que o movimento em rotação contínua.

Paqué et al. (2011) compararam *in vitro* o preparo do Protaper F2 em movimento reciprocante e a sequencia completa Protaper com rotação continua em canais mesiais de molares inferiores. Os espécimes foram escaneados com microtomografia antes e após o preparo, e os resultados demostraram que as duas técnicas prepararam o canal sem evidências de erros. No entanto, o preparo foi mais rápido usando a técnica de lima-única F2.

Assim, seguindo a evolução dos sistemas automatizados e a aplicação do conceito de lima-única, em 2011 foi lançado o sistema reciprocante Wave One. Berutti et al. (2011), este sistema é confeccionado de liga de níquel titânio M-Wire e está disponível em três tamanhos: small (ponta 21 conicidade 6%), primary (ponta 25 conicidade 8%) e large (ponta 40 conicidade 8%), a serem utilizados de acordo com o calibre inicial do canal. Nisto, como primeiro estudo, os autores avaliaram a modificação do comprimento de trabalho e a incidência da sobreinstrumentação em canais curvos de molares superiores e inferiores após o preparo com Wave One. A análise da diferença do comprimento do canal antes e após a instrumentação foi realizada com o uso de microscópio com fibra ótica, demonstrando uma diminuição significativa no comprimento de trabalho após o preparo, gerando sobreinstrumentação. Os autores concluíram que o limite de trabalho deve ser checado antes do preparo apical utilizando o sistema Wave One.

Berutti et al. (2012) avaliaram a curvatura do canal e modificação do eixo após a instrumentação com Wave One comparando-o com a sequencia completa do Protaper em movimento de rotação contínua em canais simulados curvos. Imagens digitais antes e após o preparo foram sobrepostas, demonstrando que o Wave One manteve melhor a anatomia original do canal, com menos modificação da curvatura em

comparação com o sistema Protaper.

Outro sistema reciprocante de lima-única nomeado Reciproc também confeccionado de níquel titânio M-Wire foi paralelamente lançado pela VDW, assim, Burklein et al. (2012) compararam *in vitro* o preparo e a eficiência de limpeza promovida pelos sistemas reciprocantes de lima-única Reciproc e Wave One versus sistemas de limas múltiplas em rotação contínua Mtwo e ProTaper em canais radiculares curvos. Após avaliação do preparo utilizando radiografia antes e após instrumentação, e análise do tempo de preparo e limpeza da parede dentinária por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), os autores observaram que todos os sistemas mantiveram a curvatura original do canal sem diferenças significativas entre eles, porém a instrumentação com Reciproc e Wave One foi mais rápida que os sistemas Protaper e Mtwo; com respeito à limpeza, os sistemas Mtwo e Reciproc foram mais efetivos no terço apical do que os outros sistemas.

No que se refere à rapidez do tempo de preparo, Machado et al. (2012) compararam os sistemas Wave One e Reciproc utilizando-se de canais simulados curvos, e observaram que ambos os sistemas foram rápidos no preparo dos canais, contudo o sistema Reciproc obteve menor tempo de trabalho que o Wave One.

Castelló-Escrivá et al. (2012) investigaram a resistência à fadiga cíclica do Wave One primary e das limas de rotação contínua Protaper F2 e Twisted-file em canais artificiais curvos de aço inoxidável. Os instrumentos foram utilizados até a fratura e o número de ciclos foi registrado, demonstrando que o Wave One apresentou vida mais longa do que o movimento rotatório contínuo com Twisted-file e Protaper. Nesta mesma temática, Kim et al. (2012) analisaram a resistência à fadiga cíclica e torção dos sistemas reciprocantes Reciproc e Wave One, comparando-os com o Protaper F2 em movimento rotatório contínuo em canais simulados curvos. Os resultados demonstraram que o Wave One obteve maior resistência à torção do que Reciproc e Protaper F2, todavia, o sistema Reciproc atingiu maior número de ciclos até a fratura. Os autores concluíram que as limas-únicas reciprocantes parecem ter propriedades mecânicas superiores. Na sequência, Pedullá et al. (2013) avaliaram a resistência à fadiga flexural dos sistemas reciprocantes Reciproc e Wave One comparando-os com os sistemas Mtwo e Twisted File no movimento rotatório contínuo, concluindo que a resistência à fadiga cíclica dos dois instrumentos reciprocantes foram significativamente maiores do que os demais instrumentos em rotação contínua.

O conceito de lima-única incentivou as marcas a desenvolverem outros sistemas.

A Micromega lançou o sistema One Shape, uma única-lima ponta 25 e conicidade 6%, confeccionada de níquel titânio convencional utilizada para o preparo do canal radicular em movimento de rotação contínua (Alexandre Viteaux, 2013). Assim, Burklein et al. (2013) avaliaram o tempo de preparo e preservação da curvatura radicular de canais severamente curvos instrumentados com One Shape e a comparou com Reciproc (lima única reciprocante), F360 (lima única em rotação contínua) e Mtwo (limas múltiplas em rotação contínua). Os resultados demonstraram que todas as limas avaliadas respeitaram a curvatura radicular, porém o Reciproc e o One Shape tiveram menor tempo de trabalho que os demais sistemas.

Dagna et al. (2014) estudaram a resistência à fadiga cíclica dos sistemas One Shape, Reciproc e Wave One comparando-os com o ProTaper F2 em rotação contínua. Os resultados indicaram que o Reciproc teve maior resistência à fadiga, enquanto o One Shape e WaveOne foram semelhantes, sendo os 3 sistemas mais resistentes que o Protaper F2.

Dhingra et al. (2014) analisaram o preparo de canais curvos realizados com os sistemas One Shape e Wave One. Imagens dos blocos de canais simulados antes e após a instrumentação foram sobrepostas e o preparo analisado. Os resultados demonstraram que o Wave One manteve melhor a anatomia do canal com menor modificação da curvatura que o sistema One Shape.

Reddy et al. (2014) compararam o preparo produzido pelos sistemas de rotação contínua One Shape e Twisted File em blocos de canais artificiais simulados. Após o preparo, as amostras foram analisadas usando estereomicroscópio e um programa de análise de imagens, concluindo que o Twisted File preparou e manteve melhor a curvatura e forma original do canal do que o One Shape.

Em 2013, Gernhardt descreveu o One Shape New Generation, em que modifica o seu desenho convencional, trazendo uma lima de secção assimétrica, “pitch” (espaçamento entre as espiras) e ângulo helicoidal variado, dando maior área de escape para a dentina excisada.

Seguindo a ideia de maior área de escape de dentina excisada, um novo sistema de limas múltiplas em rotação contínua, nomeado Protaper Next, foi lançado, no qual se caracteriza por uma secção transversal em forma de paralelograma que resulta numa rotação assimétrica ao longo eixo da lima. Diante deste novo desenho e cinemática diferente, Zhao et al (2014) avaliaram o preparo produzido pelos sistemas Protaper Next, Protaper Universal e Wave One em canais de molares inferiores. As

amostras foram escaneadas antes e após o preparo utilizando microtomografia computadorizada, que demonstraram que o Protaper Next produziu menor transporte apical do que o Wave One e Protaper Universal. O sistema Wave One demonstrou ser mais rápido que os outros dois sistemas.

Pires (2015) realizou um estudo avaliando o desempenho e a alteração de superfície dos instrumentos Wave One e One Shape New Generation conforme o número de usos em canais de molares superiores e inferiores extraídos. A partir da medição do tempo de trabalho e visualização das limas em MEV, a autora observou que ambos sistemas tem tempo de trabalho aumentado conforme o número de usos, porém o sistema One Shape New Generation exibe menor tempo. No que se refere às alterações dos instrumentos, o Wave One obteve maior quantidade de crack a partir do sexto uso, e a One Shape New Generation a partir do décimo uso. A autora justifica estas alterações de superfície em tempos de usos diferentes devido ao tratamento de eletropolimento de superfície da One Shape New Generation que dificulta a visualização da formação de cracks.

Çelikten et al. (2015) avaliaram por meio de tomografia computadorizada de feixe cônico o preparo de canais curvos de molares superiores produzidos pelos sistemas One Shape New Generation e Protaper Next. A análise das imagens antes e depois do preparo demonstrou que não houve diferença significativa entre os sistemas no que se refere ao preparo da curvatura e desvio apical.

Alattar et al. (2015) observaram a influência do movimento de brushing no preparo produzido por três sistemas reciprocantes de lima-única - Reciproc, Wave One e UFile (protótipo da Micromega) em canais ovais de pré-molares inferiores. Os canais de dentes extraídos foram instrumentados sem movimento de brushing até o limite de trabalho, no segundo passo foram realizados 5 movimentos de brushing sem atingir o limite de trabalho, no terceiro passo 5 movimentos de brushing foram realizados no limite de trabalho, e no quarto passo 15 movimentos de brushing foram realizados no limite de trabalho. Todos os movimentos de brushing foram realizados no sentido vestibular, e imagens antes e ao final de cada passo foram adquiridas por meio de tomografia cone beam. Os resultados demonstraram que não houve diferença entre os grupos no terço apical, porém o sistema UFile apresentou-se mais eficiente que as outras limas no terço médio do canal. No que se refere aos passos, observou-se que o aumento no número de brushing promove maior corte da dentina.

Elnaghy et al. (2015) compararam as propriedades de torção e flexão dos

sistemas de lima-única One Shape New Generation e Wave One. Os resultados mostraram que o Wave One teve maior resistência à torção e flexibilidade que o sistema One Shape New Generation. A análise da fratura por MEV demonstrou que as diferentes geometrias transversais e a liga do instrumento podem ter influência significativa na resistência à torção e na flexibilidade dos instrumentos.

Saleh et al. (2015) avaliaram o preparo produzido pelos sistemas de lima-única reciprocante Reciproc e Wave One, e de rotação contínua One Shape e F360 em blocos de canais simulados em forma de “S”. Os canais foram fotografados e analisados com superposição de imagens antes e após o preparo. Os resultados demonstraram preparos mais cêntricos quando os sistemas de rotação contínua foram utilizados, e o tempo de trabalho dos sistemas One Shape e Reciproc foi menor do que Wave One e F360. Os autores concluíram que todos os instrumentos de lima-única prepararam eficientemente os canais, porém os sistemas com conicidade menor: F360 e One Shape, são melhores no preparo de canais em forma de “S”.

Saber et al. (2015) avaliaram o tempo de trabalho e preparo realizado pelos sistemas de Wave One, Reciproc e One Shape em canais severamente curvos de molares inferiores extraídos. Radiografias antes e após o preparo foram sobrepostas e a curvatura e desvio apical foram analisados. Os resultados demonstraram que o sistema One Shape obteve menor tempo de trabalho, maior retificação dos canais e maior transporte apical em relação aos sistemas Wave One e Reciproc. Seguindo a mesma proposta, Burklein et al. (2016) avaliaram os sistemas de rotação contínua F6SkyTaper (lima-única), Mtwo e One Shape New Generation, onde não houve diferença significativa entre os grupos no que se refere ao preparo da curvatura e desvio apical. No entanto os sistemas de lima-única F6SkyTaper e One Shape New Generation foram mais rápidos que o sistema de limas múltiplas Mtwo.

Seguindo a evolução dos instrumentos, surgiu o Wave One Gold. Webber e Ruddle (2016) o descrevem como um sistema de lima-única reciprocante com tratamento adicional pós-fabricação do níquel titânio M-Wire denominado Gold que aumenta a flexibilidade do instrumento. Sua secção transversal é um paralelograma com duas bordas cortantes de 85° que alternam com uma secção transversal descentralizada onde apenas uma aresta de corte está em contato com a parede do canal. Segundo os autores, a diminuição da área de contato entre a lima e a parede do canal reduz o travamento e também resulta em maior área para remoção de dentina excisada. Assim, Coelho et al. (2016) avaliaram a presença de rachaduras na

parede dentinária de canais mesiais de molares inferiores instrumentados com os sistemas: ProFile, TRUShpape e Wave One Gold. A análise por meio de transiluminação com luz LED demonstrou que todos os sistemas produziram defeitos dentinários sem diferença entre os grupos.

Topçouğlu et al. (2016) compararam a resistência à fadiga cíclica das limas Wave One Gold, Reciproc e Wave One em canais artificiais com curvatura em forma de “S”. Os resultados demonstraram que o Wave One Gold exibiu maior resistência à fadiga cíclica do que Reciproc e Wave One. Na mesma temática, Silva et al. (2016) avaliaram a resistência flexural e à fadiga cíclica, bem como o ponto de fratura dos instrumentos Wave One Gold, Reciproc e Wave One. Os resultados demonstraram que embora o Wave One Gold tenha apresentado maior flexibilidade do que o Wave One, não foram observadas diferenças na resistência à fadiga entre os dois sistemas. No entanto, o Reciproc foi mais flexível e resistente à fadiga do que o Wave One e Wave One Gold. A análise em MEV do ponto de fratura revelou que todos os instrumentos testados apresentavam características morfológicas de uma fratura dúctil, onde nenhuma deformação plástica ocorreu no eixo helicoidal dos instrumentos.

Ozyurek et al. (2017) avaliaram o preparo produzido pelos sistemas Reciproc, HyFlex EDM e Wave One Gold em canais simulados em forma “S”. A sobreposição de imagens antes e após o preparo demonstraram que os sistemas Wave One Gold e HyFlex EDM produziram menor desgaste que o Reciproc em todos os terços, demonstrando serem limas mais conservadoras.

Pedullá et al. (2017) compararam *in vitro* a formação de microfissuras dentinária após o preparo com diferentes sistemas de lima-única: One Shape New Generation, F6 SkyTaper, HyFlex EDM, WaveOne, Reciproc e Wave One Gold em canais de incisivos centrais inferiores. Após o preparo, as raízes foram seccionadas e analisadas através de um estereomicroscópio para determinar a presença de microfissuras. Os resultados demonstraram que todos os instrumentos testados criaram fissuras dentinária, porém, o HyFlex EDM e Wave One Gold causaram menos microfissuras que os demais sistemas.

2.2 ASSEPSIA DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES

Desde a publicação de Kakehashi et al. em 1965, a microbiologia no campo da Endodontia se tornou alvo de diversas investigações, os autores observaram que as polpas de ratos expostas a bactérias resultaram em necrose pulpar e formação de lesões periapicais, enquanto polpas expostas ao ar estéril sem a presença de bactérias mantiveram sua vitalidade e produziram ponte dentinária. A partir desta observação, a remoção bacteriana do sistema de canais radiculares tornou-se um dos pontos mais importantes durante do tratamento endodôntico. Neste particular, Bystrom e Sundqvist (1981) analisaram a redução bacteriana promovida pela instrumentação manual em dentes com infecção primária e lesão periapical. Para isto, utilizaram solução salina como irrigante e o método de cultura para contagem bacteriana antes e após o preparo. Os autores observaram que a técnica manual foi capaz de reduzir significativamente o número bacteriano do canal radicular.

Continuando nesta linha de pesquisa, Yared e Dagher. (1994) avaliaram *in vivo* a redução bacteriana de canais de incisivos superiores com periodontite apical preparados com técnica manual em dois diâmetros apicais - 25 e 40 – utilizando hipoclorito de sódio como irrigante e hidróxido de cálcio como medicação intracanal. Amostras coletadas antes, após o preparo e há 7 dias foram analisadas pelo método da cultura, e mostraram redução do crescimento bacteriano sem diferença estatisticamente significativa entre os diâmetros de preparo apical 25 e 40.

Com o surgimento dos sistemas automatizados, diversos estudos foram realizados avaliando ação destes instrumentos na capacidade de assepsia dos canais radiculares. Nisto, Dalton et al. (1998) compararam *in vivo* a redução bacteriana de canais retos e curvos de molares e pré-molares inferiores com periodontite apical primária instrumentados com sistema rotatório Profile ou limas manuais tipo K utilizando solução salina como irrigante. Amostras dos canais foram obtidas antes, durante e após o preparo para a contagem bacteriana em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml). Os resultados demonstraram uma redução bacteriana significativa em ambos os grupos, porém não houve diferença entre as duas técnicas utilizadas, e nenhuma amostra se tornou livre de bactérias.

No que se refere à infecção endodôntica, Sundqvist et al. (1998) analisaram a microbiota presente em casos de falha no tratamento endodôntico, nisto, os autores

puderam observar que o *Enterococcus faecalis* é predominante nos casos de infecção endodôntica persistente.

Assim, Siqueira et al. (1999) investigaram a redução bacteriana de canais radiculares contaminados *in vitro* com *Enterococcus Faecalis* e instrumentados com limas manuais, sistema rotatório GT ou Profile utilizando solução salina como irrigante. As amostras foram coletadas antes e após o preparo dos canais e analisadas por meio de cultura. Os resultados demonstraram que todas as técnicas testadas foram capazes de reduzir significativamente o número de bactérias do canal radicular, concluindo que o preparo e a irrigação podem remover mecanicamente mais de 90% de bactérias do canal radicular.

Siqueira et al. (2000) avaliaram a redução bacteriana *in vitro* de pré-molares inferiores contaminados com *Enterococcus faecalis* e instrumentados pela técnica manual com limas de níquel titânio associada à irrigação com hipoclorito de sódio 1%, 2,5%, 5,25% ou solução salina. As amostras coletadas foram analisadas por meio de cultura e demonstraram que houve redução significativa do número de bactérias em todas as amostras, no entanto os grupos irrigados com hipoclorito de sódio tiveram maior redução que o grupo irrigado com solução salina. A concentração do hipoclorito de sódio não influenciou na redução bacteriana.

Shuping et al. (2000) analisaram a influência do irrigante e da medicação intracanal em pré-molares e molares inferiores portadores de periodontite apical crônica. Os pacientes tiveram os dentes instrumentados com sistema Profile associado ao hipoclorito de sódio 1,25% ou solução salina, sendo então medicado intracanal com hidróxido de cálcio por 7 dias. Amostras foram coletadas antes, durante, após o preparo e após a medicação e analisadas pela contagem de UFC/ml. Os resultados demonstraram maior redução bacteriana quando o hipoclorito de sódio foi utilizado, exibindo média de 61,9% de canais livres de bactérias, e que esta redução aumenta significativamente para 92,5% com a utilização da medicação intracanal por 7 dias. Os autores concluem que a irrigação com hipoclorito de sódio durante a instrumentação rotatória é importante para o tratamento endodôntico, e que a medicação intracanal pode ser utilizada para atingir melhor os objetivos do tratamento.

Coldero et al. (2002) compararam *in vitro* a redução de *Enterococcus faecalis* em raízes palatinas de molares superiores utilizando instrumentos rotatórios GT com e sem preparo apical. O primeiro grupo foi preparado até o limite de trabalho, e o

segundo grupo foi preparado a 1 mm aquém do limite de trabalho. Ambos os grupos utilizaram hipoclorito de sódio 4,4% e EDTA 17% como irrigantes. As amostras foram coletadas antes e após o preparo, cultivadas e calculadas o número de bactérias sobreviventes ao preparo. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa na redução bacteriana entre os dois grupos.

Siqueira et al. (2002) avaliaram a redução bacteriana *in vitro* produzida pela técnica manual com lima de níquel titânio ou sistema rotatório GT variando a irrigação – hipoclorito de sódio 2,5% associado ou não ao ácido cítrico ou gluconato de clorexidina 2% - em pré-molares inferiores contaminados com *Enterococcus faecalis*. Após análise pelo método de cultura, pôde-se observar que todas as técnicas avaliadas reduziram significativamente o número de bactérias dentro do canal radicular em relação ao grupo controle com solução salina.

Avanços de conhecimento e tecnologia no campo da microbiologia disponibilizaram métodos moleculares mais sensíveis para identificação bacteriana por meio do código genético. Assim, Damaa (2002) avaliou por meio de Reação em cadeia da polimerase (PCR), a eficácia do preparo químico cirúrgico na assepsia de canais radiculares de dentes com polpa mortificada e lesão periapical. Amostras de DNA bacteriano foram coletados e analisados antes e após o preparo com brocas gates glidden e limas manuais associadas ao hipoclorito de sódio 0,5%. A autora observou que somente 63,15% dos casos apresentaram-se negativos para a presença bacteriana utilizando iniciador universal, demonstrando que o preparo manual não promove assepsia em todos os casos mesmo quando utilizando solução antibacteriana como irrigante.

Colak et al. (2005) avaliaram *in vitro* a redução da população bacteriana de *Enterococcus faecalis* em pré-molares inferiores instrumentados com lima manual hedstroem, limas hedstroem no sistema Giromatic, e sistema rotatório Hero 642, irrigados com solução salina estéril. Amostras foram coletadas antes e após o preparo e analisadas pelo método de cultura, demonstrando que todos os instrumentos testados foram capazes de reduzir significativamente o número de bactérias no canal radicular.

Chuste-Guillot et al. (2006) compararam *in vitro* a redução bacteriana promovido pelos sistemas GT, HERO 642, Profile e técnica manual associado ao hipoclorito de sódio em canais infectados com *Streptococcus sanguis*. As amostras foram coletadas antes, durante e após o preparo, cultivadas em ágar sanguis para

contagem de UFC/ml e em BHI para análise por espectrofotômetro. Os resultados demonstraram que todas as técnicas reduziram significativamente o número de bactérias nos canais radiculares não havendo diferença entre as técnicas rotatórias e manual. Além disso, nenhuma das técnicas produziu amostras livre de bactérias até o término do experimento. Os autores concluíram que diferentes conicidades e diâmetro da ponta do instrumento não influenciam na redução bacteriana do canal radicular.

Aydin et al, (2007) verificaram *in vitro* a influência de preparos mais cônicos ou conservadores na remoção bacteriana de pré-molares inferiores infectados com *Enterococcus faecalis*. Sistema Protaper foi utilizado para preparos mais cônicos, e o sistema HERO Shaper para preparos mais conservadores, ambos utilizando solução salina como irrigante. As amostras foram coletadas antes e após a instrumentação para a contagem de UFC/ml. Os resultados demonstraram que ambas as técnicas de preparo reduziram significativamente o número de bactérias no canal radicular, não havendo diferença entre os sistemas. Os autores concluíram que preparos mais agressivos não resultam em maior redução bacteriana que preparos mais conservadores.

Siqueira et al. (2007) analisaram *in vivo* a redução bacteriana de dentes com periodontite apical primária crônica instrumentados pela técnica manual associada à clorexidina como irrigante e medicação intracanal com hidróxido de cálcio associado com gel de clorexidina. Amostra bacteriana foi coletada antes e após preparo químico-cirúrgico e novamente aos 7 dias de medicação intracanal, e então analisadas por qPCR. Os resultados apresentaram uma redução bacteriana significativa após o preparo químico cirúrgico e que esta ação é aumentada com o uso da medicação intracanal. No entanto, nem o preparo nem a medicação intracanal foram capazes de produzir todas as amostras negativas à detecção de bactérias cultiváveis.

Mickel et al. (2007) analisaram *in vitro* a influência da ampliação do preparo apical com instrumento rotatório na remoção bacteriana de canais contaminados com *Enterococcus faecalis*. Para este estudo, os autores instrumentaram canais de dentes extraídos utilizando sistema Profile associado ao hipoclorito de sódio 5,25%, analisando a redução bacteriana em UFC/ml conforme o número de limas utilizadas para ampliação apical. Como complementação, as raízes foram seccionadas e o canal visualizado em microscopia eletrônica de varredura após ampliação com instrumentos sequenciais. Os resultados demonstraram que houve um aumento significativo de

culturas negativas da primeira para a terceira ampliação, no entanto, a microscopia eletrônica de varredura revelou bactérias nas paredes e túbulos dentinários, mesmo nas amostras de cultura negativa.

Machado et al. (2010) avaliaram *in vitro* a redução bacteriana promovida pelos sistemas Protaper e Mtwo e água destilada como irrigante em canais disto vestibulares de molares superiores contaminados com *Enterococcus faecalis*. As amostras foram coletadas antes e após o preparo, e cultivadas para a contagem de UFC/ml. Os resultados demonstraram uma redução bacteriana significativa e semelhante em ambos os sistemas rotatórios.

O LPS bacteriano é uma endotoxina relacionada a bactérias gram (-) e responsáveis pelo desenvolvimento das lesões periapicais. Sendo assim, Martinho et al. (2010) investigaram *in vivo* a capacidade da remoção do LPS bacteriano promovido pelo sistema Mtwo associado ao hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA 17% em dentes portadores de periodontite apical. As amostras foram coletadas antes e após o preparo e analisadas pela técnica LAL (lisado de amebócito de limulus). Os resultados indicaram que o preparo com Mtwo associado ao hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA 17% foi eficaz na redução da concentração de endotoxinas de canais com periodontite apical.

Singla et al. 2010 verificaram a relação entre o preparo e a resistência à fratura radicular de pré-molares inferiores contaminados com *Enterococcus faecalis* e instrumentados até lima manual K40, sistema Profile 40/0.04, Profile 40/0.06, e Protaper F4 associados com água destilada como irrigante. Amostras antes e depois do preparo foram coletadas e analisadas por cultura, e assim, as amostras foram submetidas à uma máquina de teste universal instron para análise de resistência à fratura. Os resultados mostraram que maior redução bacteriana foi encontrada nos grupos instrumentados com Protaper F4 e Profile 40/0.06. Diminuição de resistência à fratura radicular ocorreu em todos os grupos, porém o Protaper F4 exibiu menor resistência comparado aos demais grupos. Assim, os autores puderam concluir que a instrumentação até Profile 40/0.06 oferece preparo com maior redução bacteriana com melhor resistência à fratura radicular que os demais grupos testados.

Siqueira et al. (2010) compararam *in vitro* a capacidade da redução bacteriana do sistema SAF e BioRace associados ao hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA 17% em canais ovais de incisivos e premolares inferiores contaminados com *Enterococcus faecalis*. As amostras foram coletadas antes e após o preparo e foram analisadas pelo

método de cultura. Os resultados demonstraram que a redução bacteriana foi altamente significativa em ambos os grupos, porém, o SAF foi mais eficaz do que o BioRace.

Gorduysus et al. (2011) compararam a redução *in vitro* de *Enterococcus faecalis* em canais de pré-molares inferiores humanos preparados pelos sistemas Protaper, Manual, K3, e Hero Shaper utilizando solução salina como irrigante. As amostras bacterianas adquiridas antes e após o preparo foram cultivadas e analisadas pela contagem de UFC/ml, demonstrando que todos os sistemas reduziram o número de células bacterianas, porém os instrumentos Protaper foram mais eficazes na redução bacteriana do que os outros instrumentos.

Para analisar a ação antibacteriana do preparo químico cirúrgico nos túbulos dentinários, Dornelles-Morgental et al. (2011) adicionaram uma terceira coleta do canal radicular aos 7 dias após o preparo. Nisto, os autores avaliaram *in vitro* o efeito antibacteriano de diversas substâncias químicas associadas ou não - hipoclorito de sódio 2,5%, ácido cítrico, vinagre de maçã, clorexidina 2% e ácido peracético 1% - durante a instrumentação manual de canais contaminados com *Enterococcus faecalis*. Todos os grupos tiveram redução bacteriana significativa imediatamente após o preparo químico cirúrgico, onde o hipoclorito de sódio 2,5%, ácido peracético 1%, e clorexidina 2% utilizados isoladamente obtiveram os melhores resultados. No entanto, foi observado o aumento da contagem bacteriana aos 7 dias, demonstrando que não houve erradicação bacteriana. Nesta mesma temática, Aranda-Garcia et al. (2012) avaliaram *in vitro* a eficácia antibacteriana do Endox Plus system e do hipoclorito de sódio 2,5% em combinação com Biopure MTAD ou EDTA em canais contaminados com *Enterococcus faecalis* preparados com técnica manual. As amostras imediatamente após o preparo químico-cirúrgico demonstraram que todos os grupos reduziram significativamente o número de bactérias do canal radicular, onde as irrigações convencionais com hipoclorito de sódio com Biopure MTAD ou EDTA apresentaram maiores reduções. No entanto, novamente houve crescimento significativo em todos os grupos aos 7 dias, com quantidade bacteriana semelhantes inclusive ao grupo controle irrigado com solução salina, demonstrando a persistência de contaminação dentro do sistema de canais radiculares mesmo quando substâncias químicas são utilizadas durante o preparo.

O desenvolvimento da técnica de PCR convencional fez possível a quantificação bacteriana pelo método de qPCR e transcriptase reversa. Assim, Alves

et al. (2012) compararam o método de cultura e molecular de reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) avaliando *in vitro* a redução bacteriana promovida pelos sistemas Reciproc e BioRace associados ao hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA 17% em canais ovais de incisivo e pré-molares inferiores contaminados com *Enterococcus faecalis*. A análise mostrou que ambos os sistemas de tiveram redução bacteriana significativa e semelhante entre eles, e nenhuma diferença foi detectada entre PCR e cultura, indicando que ambos os métodos podem ser usados de forma confiável para os estudos de eficácia antibacteriana.

Dagna et al. (2012) pesquisaram *in vitro* a assepsia de canais radiculares humanos extraídos contaminados com *Enterococcus faecalis* e preparados com os sistemas Mtwo, Revo S, One Shape e Reciproc associados com hipoclorito de sódio 5,25% e EDTA 17%. Amostras coletadas antes e após o preparo foram cultivadas e analisadas pela UFC/ml. Os resultados demonstraram que todos os sistemas testados foram capazes de reduzir a carga bacteriana de forma semelhante, concluindo que sistemas de lima-única oferecem resultados antibacterianos comparáveis aos instrumentos tradicionais.

As características de conicidade e diferentes secções dos sistemas rotatórios em relação às limas manuais padrão levaram ao desenvolvimento de limas manuais seguindo as configurações de sistemas rotatórios. Neste particular, Matos-Neto et al. (2012) testaram *in vitro* a eficácia de redução bacteriana promovida pelo sistema Protaper em rotação contínua e de forma manual comparando-os com a técnica manual com limas tipo K associadas à água destilada em caninos contaminados com *Enterococcus faecalis*. Amostras coletadas antes e após o preparo foram analisadas por meio de cultura que demonstraram uma redução bacteriana significativa bacteriana para todas as técnicas utilizadas, não havendo diferença entre elas. Assim, os autores concluíram que tanto a técnica em movimento rotatório mecanizado como manuais reduzem significativamente e de quantidade semelhante o número de bactérias do canal radicular.

Paranjpe et al. (2012) observaram *in vitro* a remoção de smear layer e redução bacteriana promovida pelos sistemas SAF e Protaper associados ao hipoclorito de sódio 6% e EDTA 17% em canais ovais de pré-molares superiores contaminados com *Enterococcus faecalis*. Amostras foram coletadas antes e após o preparo com e sem amostragem de dentina, a redução bacteriana foi analisada por meio de cultura, e então, as raízes seccionadas para avaliação em MEV. Os resultados demonstraram

que ambas as técnicas reduziram significativamente o *Enterococcus faecalis* dos canais ovais, porém o sistema Protaper foi mais efetivo que o SAF. A análise de MEV apresentou maior quantidade de smear layer e bactérias remanescentes no grupo instrumentado com SAF. A comparação entre coletas pós-preparo com ou sem amostragem de dentina demonstrou que a coleta de dentina pode detectar melhor a quantidade de bactérias remanescentes no canal radicular.

Lin et al. (2013) propuseram uma nova metodologia para a formação *in vitro* de biofilme e avaliar sua remoção no canal radicular. Neste estudo os autores propuseram observar a capacidade de remoção do biofilme intrarradicular utilizando os sistemas SAF, Profile e técnica manual com limas tipo K associados ao hipoclorito de sódio 3% e EDTA 17% em canais de pré-molares superiores com secção oval. Primeiramente dentes extraídos foram seccionados longitudinalmente em duas metades de raiz. Os canais foram padronizados quanto à sua profundidade, criado um sulco interno apical no canal, e encubados com uma cultura mista bacteriana proveniente de placa subgengival de pacientes voluntários. Após incubação, as duas metades foram unidas e instrumentadas de acordo com a divisão dos grupos. Assim, as amostras foram novamente separadas em duas metades, processadas e observadas em MEV para o cálculo da área de biofilme remanescente. Os resultados demonstraram que mais bactérias foram encontradas dentro do sulco, onde o grupo preparado com o sistema SAF obteve menor quantidade de biofilme nesta região. Fora do sulco todas as técnicas removeram o biofilme em quantidade semelhante. Os autores concluíram que embora nenhuma das técnicas tenha removido totalmente o biofilme intrarradicular, o grupo instrumentado com SAF obteve melhores resultados, e que o modelo metodológico de biofilme proposto representa uma potencial ferramenta para os estudos futuros de desinfecção do canal radicular.

Machado et al. (2013a) compararam a redução bacteriana promovida pelos sistemas Wave One, Reciproc, Protaper, Mtwo e técnica manual, utilizando água destilada como irrigante em canais disto vestibulares de molares superiores contaminados com *Enterococcus faecalis* imediatamente após o preparo e aos 7 dias. Os resultados demonstraram que todos os sistemas testados reduziram significativamente e em quantidade semelhante o número de bactérias na coleta imediata e aos 7 dias após o preparo, no entanto a recolonização bacteriana significativa aos 7 dias demonstrou a importância de uma medicação intracanal quando o tratamento não pode ser concluído na mesma sessão. Machado et al.

(2013b) avaliaram *in vitro* a redução bacteriana produzida pela ação da lima única reciprocante Wave One e a técnica manual utilizando água destilada como irrigante em canais disto vestibulares de molares superiores contaminados com *Enterococcus Faecalis*. Amostras obtidas antes e após o preparo foram analisadas pela contagem bacteriana e os resultados demonstraram que ambos os sistemas promoveram a redução bacteriana de forma semelhante nos dos grupos. Dando sequência ao estudo e utilizando a mesma metodologia,

Nakamura et al. (2013) avaliaram *in vitro* a assepsia promovida pelo sistema Protaper e técnica manual com lima tipo K variando a irrigação – solução salina ou hipoclorito de sódio 1% associado ou não ao ácido cítrico 15%, e hipoclorito de sódio 5,25%, em canais ovais de pré-molares inferiores infectados com *Enterococcus faecalis* e *Cândida albicans*. Amostras foram coletadas antes e após o preparo para análise de UFC/ml, e na sequência a raiz foi seccionada longitudinalmente para coleta de dentina no canal radicular. Os resultados demonstraram ambas as técnicas reduziram significativamente e de quantidade semelhante o número de microrganismos, porém maior eficácia foi encontrada quando o hipoclorito de sódio 5,25% ou o hipoclorito de sódio 1% associado ao ácido cítrico 15% foram utilizados.

Roças et al. (2013) avaliaram *in vivo* a eficácia antibacteriana da técnica manual com limas de níquel titânio e sistema Biorace associados ao hipoclorito de sódio 2,5% em canais portadores de periodontite apical primária. As amostras foram coletadas antes e depois do preparo e foram sujeitos ao PCR em tempo real para análise quantitativa, e ao método de cultura para análise qualitativa relacionada à presença ou ausência de bactérias. Os Resultados demonstraram ambas as técnicas reduziram significativamente o número de microrganismos. A comparação entre os grupos tanto na análise quantitativa pelo PCR tempo real e quanto qualitativa pelo método de cultura demonstrou não haver diferença significativa entre as duas técnicas.

Ferrer-Luque et al. (2014) compararam *in vitro* a redução de *Enterococcus faecalis* em canais de pré-molares inferiores preparados com os sistemas Mtwo, Twisted File e Wave One utilizando água destilada ou hipoclorito de sódio 5,25% como irrigantes. Amostras foram coletadas antes e após o preparo e examinadas pelas UFC/ml. Todas as amostras instrumentadas com hipoclorito de sódio 5,25% apresentaram cultura negativa, assim, estes canais foram novamente incubados a 37°C e nova amostragem coletada diariamente no período de 60 dias para análise de recolonização bacteriana sobre o tempo. Os resultados demonstraram que todos os

sistemas foram igualmente efetivos na redução de *Enterococcus faecalis*, no entanto, amostras do grupo instrumentadas com Mtwo apresentou menor número de amostras recolonizadas no período de 60 dias.

Martinho et al. (2014) compararam *in vivo* a eficácia da remoção de endotoxinas e bactérias cultiváveis utilizando os sistemas WaveOne, Reciproc, Protaper e Mtwo, utilizando hipoclorito de sódio 2,5% como irrigante em canais portadores de periodontite apical primária. Amostras antes e após o preparo foram realizadas e analisadas por método de cultura e LAL, concluindo que todos os sistemas diminuíram significativamente e em quantidade semelhante o número de endotoxinas e bactérias cultiváveis, porém nenhum foi capaz de eliminá-los totalmente.

Nabeshima et al. (2014) analisaram *in vitro* a redução bacteriana promovida pelos sistemas Wave One, One Shape e técnica manual associados à água destilada como irrigante em canais disto vestibulares de molares superiores infectados. As amostras foram coletadas antes e após o preparo e analisadas pelas UFC/ml. Os resultados indicaram que todas as técnicas foram capazes de reduzir significativamente o número de bactérias e ambos os sistemas automatizados foram semelhantes à técnica manual, e sem diferença significativa entre eles.

Nakamura et al. (2015) avaliaram *in vitro* a redução bacteriana proporcionada pelos sistemas Mtwo, Reciproc e técnica manual com limas tipo K associados ao hipoclorito de sódio 2,5% em canais ovais de pré-molares inferiores humanos infectados com *Enterococcus faecalis*. Amostras antes e após o preparo foram obtidas para contagem de UFC/ml em cultura, e os espécimes foram seccionados longitudinalmente para coleta de dentina nos três diferentes terços e análise da presença de bactéria nos túbulos dentinários. A análise não mostrou diferenças significativas entre os três grupos, onde todas reduziram significativamente o número de microrganismos na luz do canal principal e nos túbulos dentinários dos três terços.

Bortoluzzi et al. (2015) avaliaram *in vitro* a efetividade do instrumento TRUShape com ou sem uso de irrigação final sônica comparando-o ao sistema Twisted File na redução de *Enterococcus faecalis* em canais ovais de pré-molares. Para testar hipótese experimental sob o protocolo utilizado na clínica com substâncias químicas e sem o fator de interferência antibacteriana, os autores utilizaram como irrigante hipoclorito de sódio 6,15% com ou sem QMix e solução salina estéril, respectivamente. Para avaliação da redução bacteriana, coleta do canal radicular foi realizada antes e após o preparo para contagem de UFC, e então, para observar a

presença de bactérias remanescente na parede dentinária e nos túbulos dentinários, as amostras foram processadas para análise em MEV ou histológica pelo método de Brown e Brenn modificado. As avaliações demonstraram que o irrigante antibacteriano influencia nos resultados impedindo a avaliação da ação do instrumento propriamente dito. A irrigação com solução salina demonstrou que o TRUShape promove melhor redução bacteriana que o sistema Twisted File, e que esta ação é melhorada com o uso de irrigação final sônica.

Karataş et al. (2015) compararam *in vitro* a redução bacteriana promovida pelos sistemas TF Adaptive, ProTaper Next, OneShape, WaveOne, Reciproc e SAF em canais de incisivos inferiores contaminados com *Enterococcus faecalis*. Amostra do canal radicular foi coletada antes e após a instrumentação utilizando água destilada como irrigante, e assim UFC/ml foram contadas para o cálculo da redução bacteriana. Embora todos os sistemas tenham proporcionado uma redução significativa na população bacteriana, o ProTaper Next, TF Adaptive, WaveOne, Reciproc e OneShape foram significativamente mais eficazes do que o sistema SAF.

Alves et al. (2016) avaliaram *in vitro* a capacidade de desinfecção de canais de molares inferiores contaminados com *Enterococcus faecalis* e preparados com sistema BioRace e hipoclorito de sódio 2,5% complementado com a lima XP-Finisher ou irrigação ultrassônica passiva. Análise de área não preparada visualizada por microtomografia foi correlacionada com a redução bacteriana após o preparo medicado por qPCR, e num segundo momento, os canais foram recontaminados e os complementos novamente utilizados para análise da redução bacteriana na área de istmo. Os resultados demonstraram que o XP-Finisher promove maior redução bacteriana do canal radicular. A correlação entre redução bacteriana e áreas não tocadas não apresentou diferença significativa. A segunda parte do experimento demonstrou que ambos os complementos possuem efeito antibacteriano significativo no canal principal, porém nenhum deles foi efetivo na área de istmo.

Roças et al. (2016) compararam *in vivo* a redução de estreptococos em canais portadores de periodontite apical primária preparados com o sistema BioRaCe utilizando hipoclorito de sódio 2,5% ou clorexidina 2% como irrigante. Amostras do canal radicular foram coletadas antes e após o preparo e analisadas por qPCR. Os resultados demonstraram que ambos os grupos reduziram significativamente o número de estreptococos no canal radicular, no entanto, não houve diferença quanto ao uso de hipoclorito de sódio 2,5% ou clorexidina 2% como substância química principal durante a

instrumentação. Nenhum dos grupos resultou e todas as amostras livre de bactérias, um percentual de 40 a 44% das amostras ainda possuíam bactéria detectável após o preparo.

3 PROPOSIÇÃO

Comparar a ação dos sistemas Wave One Gold e One Shape New Generation com seus sistemas predecessores na remoção mecânica de *Enterococcus faecalis* em canais infectados com esta bactéria.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAGEM E PADRONIZAÇÃO

Após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 56 raízes distovestibulares de molares superiores foram separadas da coroa e dos demais canais utilizando um disco de aço dupla face em baixa rotação. (Figura 4. 1a), (Figura 4. 1b)

Figura 4.1 - Fotografia da padronização (a) Corte sagital, com disco de aço inoxidável na raiz disto vestibular, (b) Corte transversal, com disco de aço inoxidável na raiz disto vestibular.

Assim, as raízes foram radiografadas no sentido vestibulo lingual e mesio distal para medição da curvatura do canal: uma reta foi traçada saindo do centro da entrada do canal até 1/3 da raiz, outra reta foi traçada saindo do ápice até 1/3 da raiz, a intersecção das retas resultou num ângulo, sendo selecionados somente canais retos, ou seja, com 0° de curvatura. Para análise de forma transversal do canal, as radiografias foram analisadas pelo método de Jhou et al. (2004), onde o diâmetro do canal a 5 mm do ápice deveria ser na proporção 1:1 nas vistas vestibulo lingual e mesio distal. (Figura 4. 2a), (Figura 4. 2b)

Figura 4.2 - (a) Radiografia da raiz no sentido vestibulo lingual (b) Radiografia da raiz no sentido mesio distal

Assim, canais foram padronizados em 12 mm de comprimento, explorados com uma lima 10 tipo K além da abertura foraminal, e preparados no limite de trabalho de 11 mm com uma lima 15 tipo K (Dentsply Maillefer, Ballaigues, VD, Switzerland) utilizando água destilada como irrigante. Canais curvos, ovais e com diâmetros maiores que a lima 15 tipo K foram substituídos. (Figura 4. 3a), (Figura 4. 3b)

Figura 4.3 – Fotografia da padronização (a) Comprimento do trabalho em 12 mm, (b) Preparo dos condutos até a lima 15 K

O cálculo do tamanho da amostra estabelecido em 12 espécimes por grupo foi feito com o uso do software BioEstat 5.0 (Manuel Ayres, Belém, PA, Brasil) e dados de um estudo piloto, onde o desfecho primário do estudo foi a redução bacteriana imediata em porcentagem, considerando a diferença mínima entre as médias a ser detectada de 0,74% de redução bacteriana, desvio-padrão de 0,51, alfa de 5%, e poder do teste 80%.

4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Os canais foram preenchidos com EDTA 17% (Fórmula & Ação, São Paulo, SP, Brasil) e mantidos por 3 minutos para remover o smear layer, e assim irrigado com 5 ml de água destilada. O ápice foi coberto com resina composta (3M, Saint Paul, MN, EUA) e a superfície externa radicular selada com resina

epóxi (Araldite, Brascola, Joinvile, SC, Brasil). Os espécimes foram fixados com resina acrílica quimicamente ativada (Jet, Clássico, Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) em placas de polietileno de 24 poços de fundo chato (Prolab, São Paulo, SP, Brasil), e assim, esterilizados por óxido de etileno (Acecil, Campinas, SP, Brasil). (Figura 4.4a)

Figura 4.4 – (a) Fotografia dos espécimes fixados com resina acrílica, em placas de polietileno

4.3 CONTAMINAÇÃO DAS AMOSTRAS

Uma amostra de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) mantida em glicerol 30% à -20°C (Figura 4. 5a) no Laboratório de Microbiologia Oral do Instituto de Ciências Biomédicas II da Universidade de São Paulo foi agitada num vórtex por 30 segundos, e 200 µL da mesma foi inoculada em 25 ml de TSB esterilizado (Tryptic Soy Broth, Difco, Le Pont de Claix, RA, France) (Figura 4. 5b), e assim incubada em estufa a 37 °C por 24 h. Então, uma nova suspensão de *Enterococcus faecalis* foi preparada e padronizada na escala 4 McFarland ($1,2 \times 10^9$ UFC/ml) por meio da adição de TSB estéril.

Figura 4.5 - (a) Fotografia da amostra de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) mantida em glicerol
(b) Fotografia de *Enterococcus faecalis* inoculada em TSB

Quarenta e oito canais foram preenchidos com a suspensão de *Enterococcus faecalis* utilizando uma seringa de insulina (Figura 4. 6a). As placas foram agitadas por um vortex (Fisher Vortex Genie 2; Fisher scientific, Bohemia, NY, USA) durante 5 minutos para remover bolhas de ar e para promover uma melhor penetração bacteriana nos túbulos dentinários (Figura 4. 6b). Os 8 canais radiculares não contaminados remanescentes foram preenchidos com TSB estéril. Uma bolinha de algodão estéril umedecida com água destilada foi colocada na abertura do canal, a placa foi fechada com sua

tampa de acrílico (Figura 4. 7a), sendo então, incubados à 37 °C durante 21 dias, com a adição de TSB estéril nos canais a cada 48 horas.

Figura 4.6 – (a) Fotografia dos canais preenchidos com a suspensão de *Enterococcus faecalis* utilizando uma seringa de insulina (b) Fotografias das Placas sendo agitadas no vortex

Figura 4.7 – (a) Fotografia das amostras com bolinha de algodão na entrada dos canais.

4.4 COLETA INICIAL

Após o período de incubação, os canais foram preenchidos com água destilada. As amostras iniciais (S1) foram coletadas utilizando três cones de papel esterilizados de tamanho 15 (Dentsply Maillefer) introduzidos até o comprimento de trabalho, e mantidos por 1 minuto (Figura 4. 8a). Os cones de cada amostra foram levados a um tubo de propileno (Eppendorf, São Paulo, SP, Brasil) com 500 μ L de água de peptonada, agitados no vórtex por 1 minuto, sendo então realizada a diluição seriada em 6 vezes de acordo a Nabeshima et al. (2014) (Figura 4. 8b). Aliquotas de 20 μ L de cada diluição foram levadas em triplicata ao meio de cultura de ágar m-Enterococcus (Difco) (Figura 4. 8c). As placas foram incubadas a 37 °C durante 48 horas, e contagem bacteriana foi feita e calculada em Unidade formadora de Colônia (UFC) por mililitro.

Figura 4.8 – (a) Fotografia da coleta (S1) cones de papel esterilizados de tamanho 15 introduzidos até o comprimento de trabalho

Figura 4.8 – (b) Fotografia da diluição seriada (c) Fotografia das diluições em forma de triplicata no meio de cultura de ágar m-*Enterococcus*

4.5 INSTRUMENTAÇÃO DOS CANAIS

Os espécimes contaminados foram divididos em quatro grupos (n=12), e cada grupo foi preparado com as limas testadas (Figura 4. 9a) (Figura 4. 9b) (Figura 4. 9c) (Figura 4. 9d). Grupo WOG – os canais foram preparados utilizando a lima Wave One Gold Primary (ponta #25, conicidade inicial .07, Dentsply Maillefer) (Figura 4. 10a); Grupo WO – os canais foram preparados utilizando a lima Wave One Primary (ponta #25, conicidade inicial .08, Dentsply Maillefer); Grupo OSNG – os canais foram preparados utilizando a lima One Shape New Generation 25/.06 (Micromega, Besançon, FR-I, Français) (Figura 4. 10b); Grupo OS – os canais foram preparados utilizando a lima One Shape 25.06 (Micromega).

Figura 4.9 – (a) Lima Wave One Primary 25/06 (b) Lima One Shape 25/.06 (c) Lima Wave One Gold Primary 25/07 (d) Lima One Shape New Generation 25/.06

Figura 4.10 – (a) Fotografia do preparo dos canais com a lima Wave One Gold (b) Fotografia do preparo dos canais com a lima One Shape New Generation

Os grupos WOG e WO utilizaram o motor no movimento recíprocante (X-Smart Plus, Dentsply Maillefer) na configuração Wave One All, e os Grupos OSNG e OS usaram o motor (Dentsply Maillefer) no movimento de rotação contínua a 400 rpm e torque 2,5 Ncm.

Em todos os grupos, a lima foi introduzida no canal radicular usando 3 movimentos de vai-e-vem penetrando suavemente na direção apical. Após cada etapa de 3 movimentos, o canal radicular era explorado até o comprimento de trabalho usando uma lima de tamanho 15K e irrigado com água destilada. Esta cinemática foi realizada até as limas automatizadas atingirem o comprimento total de trabalho.

A irrigação durante o preparo foi realizada com um total de 10 ml de água destilada usando uma seringa e uma ponta NaviTip de calibre 29-gauge (Ultradent Products, South Jordan, EUA) no limite de até 2 mm aquém do comprimento do trabalho, utilizando movimento de vai-e-vem.

4.6 COLETA APÓS INSTRUMENTAÇÃO

Para determinar a contagem bacteriana (em CFU/ml) imediatamente após o preparo (S2), com o canal preenchido com água destilada, uma lima Hedström #25 foi introduzida no canal até o comprimento de trabalho (Figura 4.11a) utilizando movimentos circunferenciais e de tração em todas as superfícies

do canal radicular para coleta de dentina (Figura 4. 11b). A lima foi cortada abaixo do cabo, e o fragmento da parte ativa da lima foi levada a um tubo de propileno com 500 μ L de água peptonada (Figura 4.12a). Três cones de papel esterilizados de tamanho 15 foram inseridos no canal até o limite de trabalho por 1 minuto cada, e levados ao mesmo tubo com o fragmento da lima (Figura 4. 12b). Assim, o tubo foi agitado no vórtex por 1 minuto, sendo em seguida realizada a diluição seriada em 6 vezes, e então, aliquotas de 20 μ L de cada diluição foram levadas em triplicata ao meio de cultura de ágar m-Enterococcus para serem incubadas a 37 °C por 48 horas para contagem de bacteriana de S2.

Figura 4.11 – (a) Fotografia com a lima Hedström #25 introduzida no canal

Figura 4.11 – (b) Fotografia com as raspas de dentina na lima

Figura 4.12 – (a) Fotografia da lima sendo cortada abaixo do cabo (b) Fotografia da coleta (S2) com os cones de papel e o fragmento da lima no tubo eppendorf

Os canais foram preenchidos com água destilada (Figura 4. 13a) fechados com bolinha de algodão estéril na entrada do canal, e novamente incubados a 37 °C durante 7 dias (Figura 4. 13b). Então, uma terceira coleta foi realizada e plaqueada da mesma maneira que S2 para determinar a contagem bacteriana (em UFC/ml) em 7 dias após o preparo (S3).

Figura 4.13 – (a) Fotografia dos canais preenchidos com água destilada (b) Fotografia dos espécimes sendo colocados na estufa

A diferença entre a coleta inicial (S1) e pós preparo imediata (S2) e aos 7 dias (S3) determinaram a redução bacteriana nos dois momentos, no qual foram transformados em número porcentual para análise entre os grupos. (Figura 4.14a)

Figura 4.14 – (a) Fotografia da amostra no meio de cultivo após o período de incubação

4.7 CONDIÇÃO ASSÉPTICA

Todo o procedimento de contaminação, instrumentação e coleta do canal radicular foi realizado em capela de fluxo laminar previamente desinfetada com álcool 70% seguido de exposição à luz ultra violeta por 10 minutos. (Figura 4.15a)

Figura 4.15 – (a) Fotografia da capela de fluxo laminar exposta à luz ultravioleta

Para o controle de assepsia das amostras, um grupo constituído de 8 espécimes não contaminados que foram instrumentados de acordo com cada grupo ($n=2$) foi utilizado e analisado por meio de coleta assim como os grupos experimentais.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram tabulados e submetidos ao teste de Liliefors para verificar a curva de normalidade. Assim, foi aplicado o teste de Wilcoxon para análise intragrupos e Kruskal-Wallis complementado pelo teste de Dunn para análise entre grupos. O nível de significância para todas as análises foi de 5%. Os testes foram executados utilizando o software BioEstat 5.0.

5 RESULTADOS

Todos os sistemas reduziram significativamente a carga bacteriana no canal radicular tanto na coleta imediata quanto aos 7 dias após o preparo ($p < 0,05$). No entanto, houve aumento do número de bactérias aos 7 dias após o preparo quando comparado com a coleta imediata ($p < 0,05$).

A comparação entre os grupos mostrou que Wave One Gold e One Shape New Generation promoveram uma redução bacteriana maior em comparação aos sistemas Wave One e One Shape ($p < 0,05$), mas não houve diferença significativa entre Wave One Gold e One Shape New Generation ou entre Wave One e One Shape ($p > 0,05$).

A condição asséptica durante o experimento foi comprovada pela ausência de crescimento bacteriano em amostras não contaminadas.

A tabela 1 apresenta a mediana de CFU/ml de *Enterococcus faecalis* antes, imediatamente após o preparo, e aos 7 dias, bem como a redução bacteriana nos dois tempos.

Gráfico 5.1 – (a) Percentual de bactéria remanescente imediatamente após o preparo e aos 7 dias

Tabela 5.1 – (a) Mediana (em UFC/ml) das coletas inicial (S1), imediata (S2) e 7 dias (S3) após o preparo e o percentual da redução bacteriana

Grupos	S1 [†]	S2 [†]	S3 [†]	S1-S2	%	S1-S3	%
Wave One Gold ^a	2,42 x 10 ⁷	4,70 x 10 ⁵	1,33 x 10 ⁶	2,36 x 10 ⁷	98.1	2,28 x 10 ⁷	94.5
One Shape New Generation ^a	2,36 x 10 ⁷	4,50 x 10 ⁵	1,44 x 10 ⁶	2,28 x 10 ⁷	98.1	2,20 x 10 ⁷	93.9
Wave One ^b	2,09 x 10 ⁷	8,50 x 10 ⁵	1,95 x 10 ⁶	2,00 x 10 ⁷	95.9	1,92 x 10 ⁷	90.9
One Shape ^b	2,10 x 10 ⁷	7,02 x 10 ⁵	1,95 x 10 ⁶	2,03 x 10 ⁷	96.7	1,90 x 10 ⁷	90.8

[†]Mesmos símbolos e ^{a-b}letras diferentes sobrescritas significam diferença significativa entre colunas e linhas, respectivamente (p<0.05).

6 DISCUSSÃO

As etapas da terapia endodôntica relacionadas com a assepsia do sistema de canais radiculares são: o preparo químico cirúrgico, a irrigação e a medicação intracanal. No que se refere ao preparo químico cirúrgico, a ação mecânica dos instrumentos promove a destruição do biofilme e permite que a substância irrigadora exerça seu efeito antibacteriano (Machado, 2016; Bortoluzzi et al., 2015).

A tendência atual na endodontia destaca os sistemas reciprocantes e rotatórios como substitutos dos instrumentos de uso manual. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade de remoção mecânica bacteriana com alguns destes sistemas utilizados no preparo do canal. Para uma avaliação precisa, foi eliminado as substâncias irrigadoras, para assim observar criticamente a ação mecânica. Desta forma justifica na metodologia o uso de água destilada esterilizada como solução irrigadora que não irá interferir na redução bacteriana. (Dalton et al., 1998; Siqueira et al., 1999; Colack et al., 2005; Aydin et al., 2007; Machado et al., 2010; Singla et al., 2010; Gordoyesus et al., 2010; Matos-Neto et al., 2012; Machado et al., 2013a; Machado et al., 2013b; Nabeshima et al., 2014; Karatas et al., 2015; Bortoluzzi et al., 2015).

Atualmente, a importância do estudo da remoção bacteriana constitui o marco básico da Endodontia, pois sua ação diretamente relacionada com as patologias periapicais e sua erradicação é um desafio a ser enfrentado (Takehashi et al., 1965; Bystrom e Sundqvist 1981). Neste particular, o que pode ser observado na literatura é que a instrumentação mecanizada apresenta uma alta performance na redução bacteriana quando comparada aos métodos manuais (Peters 2004; Singla et al., 2010; Gordoyesus et al., 2011; Matos-Neto et al., 2012; Machado et al., 2013b; Nakamura et al., 2013; Roças et al., 2013; Nabeshima et al., 2014). Já os sistemas de lima-única vem sendo amplamente empregados pois resultam na simplificação da terapia endodôntica, e recentemente novos sistemas únicos de preparo foram introduzidos no mercado tais como: Wave One Gold e One Shape New Generation. Sobre a luz da remoção mecânica bacteriana, Nabeshima et al. (2014), observaram que o emprego das limas Wave One e One Shape não apresentaram diferenças

estatísticas entre si, a redução bacteriana se situou em torno do 96%. Contudo, o efeito das modificações no desenho das limas Wave One e One Shape que se transformaram em Wave One Gold e One Shape New Generation carecem de estudos frente à ação de antibacteriana, e desta forma, se justifica o desenvolvimento de ensaios microbiológicos para esclarecer o desempenho destes novos sistemas.

Para verificar a remoção bacteriana vários métodos são empregados, cada um com sua particularidade. O método de cultura é amplamente utilizado e é um procedimento de grande valia nos estudos de microbiologia endodôntica, tanto quando aplicado *in vivo* quanto *in vitro* (Bystrom; Sundqvist, 1981; Yared; Dagher, 1994; Dalton et al., 1998; Sundqvist et al., 1998; Siqueira et al., 2000; Shuping et al., 2000; Siqueira et al., 2002; Colack et al., 2005; Chuste-Guillot et al., 2006; Aydin et al., 2007; Mickel et al., 2007; Machado et al., 2010; Gorduysus et al., 2010; Singla et al., 2010; Dagna et al., 2012; Matos-Neto et al., 2012; Machado et al., 2013a; Machado et al., 2013b; Nakamura et al., 2013; Ferrer-Luque et al. 2014; Nabeshima et al., 2014; Martinho et al., 2014; Nakamura et al. 2015). Esse método tem natureza de amplo alcance o que permite identificar uma grande variedade de espécies microbianas conhecidas em uma amostra, além disso, determina as susceptibilidades antimicrobianas dos microrganismos isolados e estuda sua fisiologia e patogenicidade. (Siqueira; Roças, 2005).

Diante da heterogeneidade bacteriana da infecção endodôntica, métodos moleculares vêm sendo empregados nos estudos *in vivo* pela sua alta sensibilidade, sendo possível detectar e identificar pequenas quantidades de bactérias, mesmo aquelas não cultiváveis com comportamento atípico ou ambíguo (Siqueira; Roças 2005; Roças et al., 2016). Contudo, os métodos moleculares de PCR baseiam-se na detecção de DNA residual de bactérias vivas e mortas (Damaa, 2002), o que pode levar a uma sobre avaliação de níveis residuais bacterianos. Já o PCR-real time com transcriptase reversa utiliza o RNA para quantificação bacteriana, e por isso apresenta uma característica positiva por detectar somente a presença de bactérias viáveis (Shin, 2012) e, portanto ativa. Tais métodos moleculares são muito interessantes, mas não são necessários para ser aplicado no presente experimento porque o estudo utilizou uma bactéria conhecida e cultivável, e com quantidade suficiente para ser detectável pelo método de cultura, mesmo depois da instrumentação. Ademais,

nesse sentido, nos estudos *in vitro*, tanto o método da cultura quanto o método molecular tem mostrado resultados similares na ação antibacteriana promovida pela instrumentação, sendo ambos eficazes para esse objetivo (Alves et al., 2012).

Assim, o método da cultura é uma metodologia válida sendo empregada atualmente nos estudos microbiológicos *in vitro* de redução bacteriana quando a população bacteriana é conhecida e cultivável, requisitos apresentados pelo *Enterococcus faecalis* como agente contaminador (Colack et al., 2005; Chuste-Guillot et al., 2006; Aydin et al., 2007; Mickel et al., 2007; Machado et al., 2010; Gorduysus et al., 2010; Singla et al., 2010; Dagna et al., 2012; Matos-Neto et al., 2012; Machado et al., 2013a; Machado et al., 2013b; Nakamura et al., 2013; Ferrer-Luque et al., 2014; Nabeshima et al., 2014; Nakamura et al., 2015).

A escolha do *Enterococcus faecalis* está calcada no fato de que esta é uma bactéria gram positiva e anaeróbia facultativa frequentemente isolada nos casos de periodontite apical persistente (Figdor; Sundqvist 2007), clinicamente de difícil erradicação inclusive nos procedimentos endodônticos. Sua escolha também se justifica pela facilidade de manuseio laboratorial, seu manejo é simples, de fácil cultivo *in vitro*, e desta forma se pode observar uma redução nas variáveis sem erros, melhor controle metodológico e maior fidelidade nos resultados (Coldero et al., 2002; Siqueira et al., 2000; Siqueira et al., 2002; Colack et al., 2005; Aydin et al., 2007; Mickel et al., 2007; Machado et al., 2010; Gorduysus et al., 2010; Alves et al., 2012; Dagna et al., 2012; Matos-Neto et al., 2012; Machado et al., 2013a; Machado et al., 2013b; Nakamura et al., 2013; Ferrer-Luque et al., 2014; Nabeshima et al., 2014; Nakamura et al., 2015).

Nesse sentido, no presente estudo, os canais foram contaminados com *Enterococcus faecalis* e cultivados por 21 dias, período experimental indicado para o desenvolvimento do biofilme. Estudos de remoção bacteriana demonstraram que a resposta das células nos biofilmes maduros e imaturos são diferentes, onde a matriz de exopolissacarídeo do biofilme imaturo é vulnerável podendo ser removida facilmente (Shem et al., 2011). Já o biofilme bacteriano maduro permite observar as condições semelhantes às encontradas nos canais radiculares com periodontite apical (Ricucci; Siqueira, 2010; Nakamura et al., 2013; Paranjpe et al., 2012; Matos-Neto et al., 2012; Machado et al., 2013a; Nabeshima et al., 2014; Ferrer-Luque et al., 2014; Nakamura et al., 2015).

Além da coleta com cone de papel, tomou-se uma amostra de dentina com lima hedstroem, a fim de coletar restos de biofilme ainda aderidos à parede do canal radicular e bactérias presentes nos túbulos dentinários circundante do canal principal (Machado et al., 2013; Nabeshima et al., 2014), pois as amostras feitas somente com cones de papel, dificilmente tocam regiões inacessíveis do sistema de canais radiculares, coletando só as bactérias planctônicas do canal principal (Siqueira et al., 2010; Alves et al., 2016).

A nova amostragem aos sete dias (S3) tem por objetivo coletar bactérias residuais que eventualmente poderiam se alojar em maior profundidade nos túbulos dentinários (Dornelles-Morgental et al., 2011; Aranda-Garcia et al., 2012; Machado et al., 2013a). Os resultados do presente estudo demonstraram que após sete dias (S3) houve um aumento do número de bactérias quando comparado com a coleta imediata após a instrumentação (S2), estando de acordo com outros estudos na literatura (Dornelles-Morgental et al., 2011; Aranda-Garcia et al., 2012; Machado et al., 2013a). Isto poderia ser explicado pelo fato que as bactérias restantes dentro dos túbulos dentinários poderiam ter se multiplicado e migrado para o canal devido a ausência de uma barreira física tais como o material obturador ou a medicação intracanal (Siqueira et al., 2007; Camara et al., 2009). Entretanto, o número de bactérias em 7 dias (S3) ainda foi menor ao ser comparado com o número bacteriano inicial (S1), concordando com estudos prévios (Aranda-Garcia et al., 2012; Machado et al., 2013a).

O modelo anatômico, baseando nos molares, encontra uma justificativa quando comparado à realidade clínica, pois estes apresentam uma alta incidência de periodontite apical persistente requerendo tratamento endodônticos (Kirkevang et al., 2007). A raiz disto vestibular tem sua justificativa baseada dentro do fator de padronização das amostras, pois a maioria apresenta canais retos, tem um diâmetro capaz de ser moldado por um instrumento com ponta 0,25 mm, possuem um único canal, e geralmente são circulares (Machado et al., 2013a; Nabeshima et al., 2014), diferentemente a isto, a raiz méso vestibular foi excluída do estudo por apresentar na maioria das vezes dois canais na raiz méso-vestibular e curvaturas variáveis (Pineda; Kuttler, 1972), já o canal da raiz palatina é mais amplo e variável, podendo comprometer a padronização das amostras (Nabeshima et al., 2014; Machado et al., 2013a; Machado et al., 2010). Outro grupo dentário muito utilizado em inúmeros ensaios da literatura

sobre a redução bacteriana são os pré-molares (Siqueira et al., 2000; Siqueira et al., 2002; Colack et al., 2005; Aydin et al., 2007; Singla et al., 2010; Siqueira et al., 2010; Gorduysus et al., 2011; Paranjpe et al., 2012; Lin et al., 2013; Nakamura et al., 2013; Ferrer-Luque et al., 2014; Nakamura et al., 2015). Estes condutos não foram utilizados no presente ensaio devido a alta incidência de canais ovais (Jou et al., 2004) e grande calibre.

Na metodologia, o número de espécimes do presente trabalho tem como base dados obtidos em estudo piloto, sendo então, realizado o cálculo da amostra que foi determinado em 12 espécimes por grupo. No entanto, mesmo assim, os dados adquiridos no projeto final não apresentaram aderência à curva de normalidade, assim, o número absoluto de UFC/ml e a redução percentual foram utilizados e analisados por um teste não paramétricos indicado para tais casos (Machado et al., 2010; Siqueira et al., 2010; Gorduysus et al., 2011; Alves et al., 2012; Matos-Neto et al., 2012; Nakamura et al., 2013; Martinho et al. 2014; Nakamura et al., 2015).

Os resultados revelaram que todos os sistemas avaliados apresentaram uma redução significativa dos níveis bacterianos ($p>0,05$) (Tabela 1). Os sistemas de lima única Wave One e One Shape mostraram uma redução estaticamente significativa sem diferença entre eles, concordando com o reportado por Nabeshima et al. (2014). Assim, pode-se inferir que a cinemática recíprocante ou rotatória do instrumento não influencia na redução bacteriana, concordando com outros autores (Alves et al., 2012; Dagna et al., 2012; Machado et al., 2013a; Machado et al., 2013; Ferrer-Luque et al., 2014; Martinho et al., 2014; Nabeshima et al., 2014; Nakamura et al., 2015; Karatas et al., 2015).

Entretanto, observou-se que quando foram empregados os novos sistemas Wave One Gold e One Shape New Generation obteve-se níveis de redução bacteriana estatisticamente maiores que os sistemas Wave One e One Shape. Não havendo, todavia, diferença estatística entre a redução bacteriana obtida pelos sistemas Wave One Gold e One Shape New Generation. Estes resultados são consideráveis mostrando níveis de reduções bacteriana imediata de até 98%, porém sugerindo que o conduto não estava totalmente livre de bactérias, concordando com estudos prévios reportados na literatura (Dalton et al., 1998; Siqueira et al., 1999; Colack et al., 2005; Aydin et al., 2007; Machado et al., 2010; Singla et al., 2010; Gorduysus et al., 2011; Matos-Neto et al., 2012; Machado et

al., 2013a; Machado et al., 2013b; Nabeshima et al., 2014). Entretanto, estudos têm demonstrado que o fato da ação mecânica dos instrumentos, mesmo associada à química de substâncias, não tem sido promovido uma completa erradicação das bactérias (Siqueira et al., 2002; Martinho et al., 2010; Alves et al., 2012; Lin et al., 2013; Roças et al., 2013; Martinho et al., 2014; Nakamura et al., 2015). Demonstrando que o ato do preparo químico cirúrgico não leva à esterilização e completa desinfecção do sistema de canais radiculares (Machado, 2016; Siqueira et al., 2017).

Frente a estas abordagens e impressões, e tendo em vista que a patologia periapical é de origem polimicrobiana, se sugere que novos ensaios com biofilme multiespécies sejam feitos para experimentação. Investigar a remoção bacteriana dos instrumentos novos por terços também seria conveniente para assim, poder examinar os níveis de desinfecção no terço apical onde a limpeza é mais difícil (Blank-Goncalves et al., 2011; Lin et al., 2103).

7 CONCLUSÕES

Dentro das condições do presente estudo, os sistemas Wave One, One Shape, Wave One Gold e One Shape New generation reduziram significativamente a carga bacteriana.

Os sistemas Wave One Gold e One Shape New Generation promoveram maior redução bacteriana que seus predecessores Wave One e One Shape.

Os resultados demonstraram que a coleta após os sete dias (S3) teve um aumento do número de bactérias quando comparado com a coleta imediata após a instrumentação (S2).

A cinemática recíprocante ou de rotação contínua do instrumento não influenciou na redução bacteriana, demonstrando uma redução significativa no uso de ambos movimentos.

REFERÊNCIAS¹

Alexandre VITEAUX. L'instrumentation unique en rotation continue – Dental Tribune – 2013. E-Paper Juin 2013 ZWP- 05/2013 [citado 10 Maio 2017] http://www.dentaltribune.com/articles/specialities/endodontics/17276_instrumentation_unique_en_rotation_continue.html

Alattar S, Nehme W, Diemer F, Naaman A. The influence of brushing motion on the cutting behavior of 3 reciprocating files in oval-shaped canals. J Endod. 2015;41(5):703-9.

Alves FR, Andrade-Junior CV, Marceliano-Alves MF, Perez AR, Roças IN, Versiani MA, et al. Adjunctive Steps for Disinfection of the Mandibular Molar Root Canal System: A Correlative Bacteriologic, Micro-Computed Tomography, and Cryopulverization Approach. J Endod. 2016;42(11):1667-72.

Alves FR, Roças IN, Almeida BM, Neves MA, Zoffoli J, Siqueira JF, Jr. Quantitative molecular and culture analyses of bacterial elimination in oval-shaped root canals by a single-file instrumentation technique. Int Endod J. 2012;45(9):871-7.

Aranda-Garcia AR, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria-Junior NB, Chavez-Andrade GM, Leonardo RT, Tanomaru-Filho M, et al. Antibacterial effectiveness of several irrigating solutions and the Endox Plus system - an ex vivo study. Int Endod J. 2012;45(12):1091-6.

Aydin C, Tunca YM, Senses Z, Baysallar M, Kayaoglu G, Orstavik D. Bacterial reduction by extensive versus conservative root canal instrumentation in vitro. Acta Odontol Scand. 2007;65(3):167-70.

Berutti E, Chiandussi G, Paolino DS, Scotti N, Cantatore G, Castellucci A, et al. Effect of canal length and curvature on working length alteration with WaveOne reciprocating files. J Endod. 2011;37(12):1687-90.

Berutti E, Chiandussi G, Paolino DS, Scotti N, Cantatore G, Castellucci A, et al. Canal shaping with WaveOne Primary reciprocating files and ProTaper system: a comparative study. J Endod. 2012;38(4):505-9.

Blank-Gonçalves LM, Nabeshima CK, Martins GHR, Machado MEL. Qualitative analysis of the removal of the smear layer in the apical third of curved roots: Conventional irrigation versus activation systems. J Endod 2011;37(9):1268-71

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

Bortoluzzi EA, Carlon D, Jr., Meghil MM, El-Awady AR, Niu L, Bergeron BE, et al. Efficacy of 3D conforming nickel titanium rotary instruments in eliminating canal wall bacteria from oval-shaped root canals. *J Dent*. 2015;43(5):597-604.

Burklein S, Hinschitza K, Dammaschke T, Schafer E. Shaping ability and cleaning effectiveness of two single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth: Reciproc and WaveOne versus Mtwo and ProTaper. *Int Endod J*. 2012;45(5):449-61.

Burklein S, Jager PG, Schafer E. Apical transportation and canal straightening with different continuously tapered rotary file systems in severely curved root canals: F6 SkyTaper and OneShape versus Mtwo. *Int Endod J*. 2016. doi:10.1111/iej.12716.

Burklein S, Benten S, Schafer E. Shaping ability of different single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J*. 2013;46(6):590-7.

Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*. 1981;89(4):321-8.

Camara AC, de Albuquerque MM, Aguiar CM, de Barros Correia AC. In vitro antimicrobial activity of 0.5%, 1%, and 2.5% sodium hypochlorite in root canals instrumented with the ProTaper Universal system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(2):e55-61.

Castello-Escriva R, Alegre-Domingo T, Faus-Matoses V, Roman-Richon S, Faus-Llacer VJ. In vitro comparison of cyclic fatigue resistance of ProTaper, WaveOne, and Twisted Files. *J Endod*. 2012;38(11):1521-4.

Celikten B, Uzuntas CF, Kursun S, Orhan AI, Tufenkci P, Orhan K, et al. Comparative evaluation of shaping ability of two nickel-titanium rotary systems using cone beam computed tomography. *BMC Oral Health*. 2015;15:32.

Chuste-Guillot MP, Badet C, Peli JF, Perez F. Effect of three nickel-titanium rotary file techniques on infected root dentin reduction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;102(2):254-8.

Coelho MS, Card SJ, Tawil PZ. Light-emitting Diode Assessment of Dentinal Defects after Root Canal Preparation with Profile, TRUShape, and WaveOne Gold Systems. *J Endod*. 2016;42(9):1393-6.

Colak M, Evcil S, Bayindir YZ, Yigit N. The effectiveness of three instrumentation techniques on the elimination of *Enterococcus faecalis* from a root canal: an in vitro study. *J Contemp Dent Pract*. 2005;6(1):94-106.

Coldero LG, McHugh S, MacKenzie D, Saunders WP. Reduction in intracanal bacteria during root canal preparation with and without apical enlargement. *Int Endod J*. 2002;35(5):437-46.

Dagna A, Arciola CR, Visai L, Selan L, Colombo M, Bianchi S, et al. Antibacterial efficacy of conventional and single-use Ni-Ti endodontic instruments: an in vitro microbiological evaluation. *Int J Artif Organs*. 2012;35(10):826-31.

Dagna A, Poggio C, Beltrami R, Colombo M, Chiesa M, Bianchi S. Cyclic fatigue resistance of OneShape, Reciproc, and WaveOne: An in vitro comparative study. *J Conserv Dent*. 2014;17(3):250-4.

Dalton BC, Orstavik D, Phillips C, Pettiette M, Trope M. Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. *J Endod*. 1998;24(11):763-7.

Damaa C. Avaliação da eficácia do preparo químico-cirúrgico na desinfecção de canais radiculares de dentes com polpa mortificada e lesão periapical. Uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2002.

De-Deus G, Moreira EJ, Lopes HP, Elias CN. Extended cyclic fatigue life of F2 ProTaper instruments used in reciprocating movement. *Int Endod J*. 2010a;43(12):1063-8.

De-Deus G, Barino B, Zamolyi RQ, Souza E, Fonseca A, Jr., Fidel S, et al. Suboptimal debridement quality produced by the single-file F2 ProTaper technique in oval-shaped canals. *J Endod*. 2010b;36(11):1897-900.

Dhingra A, Kochar R, Banerjee S, Srivastava P. Comparative evaluation of the canal curvature modifications after instrumentation with One Shape rotary and Wave One reciprocating files. *J Conserv Dent*. 2014;17(2):138-41.

Dornelles-Morgental R, Guerreiro-Tanomaru JM, de Faria-Junior NB, Hungaro-Duarte MA, Kuga MC, Tanomaru-Filho M. Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;112(3):396-400.

Elnaghy AM, Elsaka SE. Torsion and bending properties of OneShape and WaveOne instruments. *J Endod*. 2015;41(4):544-7.

Ferrer-Luque CM, Bejarano I, Ruiz-Linares M, Baca P. Reduction in *Enterococcus faecalis* counts - a comparison between rotary and reciprocating systems. *Int Endod J*. 2014;47(4):380-6.

Figdor D, Sundqvist G. A big role for the very small--understanding the endodontic microbial flora. *Aust Dent J*. 2007;52(1 Suppl):S38-51.

Gernhardt CR. OneShape a single file NiTi system for root canal instrumentation used in continuous rotation. *ENDO*. 2013;7(3):211-6.

Gorduysus M, Nagas E, Torun OY, Gorduysus O. A comparison of three rotary systems and hand instrumentation technique for the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal. *Aust Endod J*. 2011;37(3):128-33.

Jou YT, Karabucak B, Levin J, Liu D. Endodontic working width: current concepts and techniques. *Dent Clin North Am*. 2004;48(1):323-35.

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

Karatas E, Gultekin E, Arslan H, Kirici DO, Alsancak M, Topcu MC. Evaluation of instrumentation systems in reducing *E. faecalis* from root canals: TF adaptive and ProTaper next versus single file systems. *Int J Artif Organs*. 2015;38(3):161-4.

Kim HC, Kwak SW, Cheung GS, Ko DH, Chung SM, Lee W. Cyclic fatigue and torsional resistance of two new nickel-titanium instruments used in reciprocation motion: Reciproc versus WaveOne. *J Endod*. 2012;38(4):541-4.

Kirkevang LL, Vaeth M, Horsted-Bindslev P, Bahrami G, Wenzel A. Risk factors for developing apical periodontitis in a general population. *Int Endod J*. 2007;40(4):290-9.

Lin J, Shen Y, Haapasalo M. A comparative study of biofilm removal with hand, rotary nickel-titanium, and self-adjusting file instrumentation using a novel in vitro biofilm model. *J Endod*. 2013;39(5):658-63.

Machado MEL, Nabeshima CK, Leonardo MFP, Cardenas JEV. Análise de tempo de trabalho da instrumentação recíproca com lima única: WaveOne e Reciproc. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 2012; 66(2): 120-5.

Machado ME, Nabeshima CK, Leonardo MF, Reis FA, Britto ML, Cai S. Influence of reciprocating single-file and rotary instrumentation on bacterial reduction on infected root canals. *Int Endod J*. 2013a;46(11):1083-7.

Machado MEL, Nabeshima CK, Leonardo MFP, Machado FBL, Britto MLB, Cai S. Valutazione dell'effetto meccanico di strumenti singoli con movimento reciprocante (sistema WaveOne) in canali radicolari contaminati. *IL Dentista Moderno*. 2013b;31(7):110-8.

Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. *J Endod*. 2010;36(7):1238-40.

Machado MEL. *Endodoncia Ciencia y tecnología*. Caracas: Almoca; 2016.

Martinho FC, Chiesa WM, Marinho AC, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JF, et al. Clinical investigation of the efficacy of chemomechanical preparation with rotary nickel-titanium files for removal of endotoxin from primarily infected root canals. *J Endod*. 2010;36(11):1766-9.

Martinho FC, Gomes AP, Fernandes AM, Ferreira NS, Endo MS, Freitas LF, et al. Clinical comparison of the effectiveness of single-file reciprocating systems and rotary systems for removal of endotoxins and cultivable bacteria from primarily infected root canals. *J Endod*. 2014;40(5):625-9.

Matos Neto M, Santos SS, Leao MV, Habitante SM, Rodrigues JR, Jorge AO. Effectiveness of three instrumentation systems to remove *Enterococcus faecalis* from root canals. *Int Endod J*. 2012;45(5):435-8.

Mickel AK, Chogle S, Liddle J, Huffaker K, Jones JJ. The role of apical size determination and enlargement in the reduction of intracanal bacteria. *J Endod*. 2007;33(1):21-3.

Nabeshima CK, Caballero-Flores H, Cai S, Aranguren J, Borges Britto ML, Machado ME. Bacterial removal promoted by 2 single-file systems: Wave One and One Shape. *J Endod*. 2014;40(12):1995-8.

Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, Gavini G. Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. *Int Endod J*. 2013;46(3):217-24.

Nakamura VC, Candeiro GT, Cai S, Gavini G. Ex vivo evaluation of three instrumentation techniques on *E. faecalis* biofilm within oval shaped root canals. *Braz Oral Res*. 2015;29. pii: S1806-83242015000100224. doi:10.1590/1807-3107BOR-2015.

Ozyurek T, Yilmaz K, Uslu G. Shaping Ability of Reciproc, WaveOne GOLD, and HyFlex EDM Single-file Systems in Simulated S-shaped Canals. *J Endod*. 2017. 43(5):805-809

Paque F, Zehnder M, De-Deus G. Microtomography-based comparison of reciprocating single-file F2 ProTaper technique versus rotary full sequence. *J Endod*. 2011;37(10):1394-7.

Paranjpe A, de Gregorio C, Gonzalez AM, Gomez A, Silva Herzog D, Pina AA, et al. Efficacy of the self-adjusting file system on cleaning and shaping oval canals: a microbiological and microscopic evaluation. *J Endod*. 2012;38(2):226-31.

Peters OA. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod*. 2004;30(8):559-67.

Pedulla E, Genovesi F, Rapisarda S, La Rosa GR, Grande NM, Plotino G, et al. Effects of 6 Single-File Systems on Dentinal Crack Formation. *J Endod*. 2017;43(3):456-61.

Pedulla E, Grande NM, Plotino G, Gambarini G, Rapisarda E. Influence of continuous or reciprocating motion on cyclic fatigue resistance of 4 different nickel-titanium rotary instruments. *J Endod*. 2013;39(2):258-61.

Pineda F, Kuttler Y. Mesiodistal and buccolingual roentgenographic investigation of 7,275 root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1972;33(1):101-10.

Pires MVMP. Avaliação do desempenho e alteração de superfície das limas Wave One e One Shape no decorrer do número de usos [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2015.

Reddy PJ, Kumar VS, Aravind K, Kumar HT, Vishal MB, Vizaikumar VN, et al. Canal shaping with one shape file and twisted files: a comparative study. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(12):Zf01-3.

Ricucci D, Siqueira JF, Jr. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod.* 2010;36(8):1277-88.

Roane JB, Sabala CL, Duncanson MG, Jr. The "balanced force" concept for instrumentation of curved canals. *J Endod.* 1985;11(5):203-11.

Roças IN, Lima KC, Siqueira JF, Jr. Reduction in bacterial counts in infected root canals after rotary or hand nickel-titanium instrumentation--a clinical study. *Int Endod J.* 2013;46(7):681-7.

Roças IN, Provenzano JC, Neves MA, Siqueira JF, Jr. Disinfecting Effects of Rotary Instrumentation with Either 2.5% Sodium Hypochlorite or 2% Chlorhexidine as the Main Irrigant: A Randomized Clinical Study. *J Endod.* 2016;42(6):943-7.

Saber SE, Nagy MM, Schafer E. Comparative evaluation of the shaping ability of WaveOne, Reciproc and OneShape single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J.* 2015;48(1):109-14.

Saleh AM, Vakili Gilani P, Tavanafar S, Schafer E. Shaping ability of 4 different single-file systems in simulated S-shaped canals. *J Endod.* 2015;41(4):548-52.

Shen Y, Stojicic S, Haapasalo M. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine against bacteria in biofilms at different stages of development. *J Endod.* 2011;37(5):657-61.

Shin RCF. Estudo crítico dos métodos moleculares utilizando iniciadores universais na identificação da microbiota endodôntica e da desinfecção do sistema de canais radiculares [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012.

Shuping GB, Orstavik D, Sigurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. *J Endod.* 2000;26(12):751-5.

Silva EJ, Tinoco JM, Tinoco EMB, Vieira VT, Sassone LM, Lopes HP. Bending resistance and cyclic fatigue life of a new single-file reciprocating instrument WaveOne Gold. *Eur Endod J.* 2016;1:4. doi 10.5152/eej.2016.16018

Singla M, Aggarwal V, Logani A, Shah N. Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in *Enterococcus faecalis* colony-forming units and vertical root fracture resistance of root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109(3):e105-10.

Siqueira JF Jr, Alves FR, Almeida BM, de Oliveira JC, Roças IN. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. *J Endod.* 2010;36(11):1860-5.

Siqueira JF Jr, Lima KC, Magalhaes FA, Lopes HP, de Uzeda M. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod.* 1999;25(5):332-5.

Siqueira JF Jr, Perez AR, Marceliano-Alves MF, Provenzano JC, Silva SG, Pires FR, et al. What happens to unprepared root canal walls: a correlative analysis using micro-computed tomography and histology/scanning electron microscopy. *Int Endod J.* 2017. doi: 10.1111/iej.12753.

Siqueira JF Jr, Roças IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 1--current molecular technologies for microbiological diagnosis. *J Endod.* 2005;31(6):411-23.

Siqueira JF Jr, Roças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod.* 2000;26(6):331-4.

Siqueira JF Jr, Paiva SS, Roças IN. Reduction in the cultivable bacterial populations in infected root canals by a chlorhexidine-based antimicrobial protocol. *J Endod.* 2007;33(5):541-7.

Siqueira JF Jr, Roças IN, Santos SR, Lima KC, Magalhaes FA, de Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod.* 2002;28(3):181-4.

Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren 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.

Topcuoglu HS, Duzgun S, Akti A, Topcuoglu G. Laboratory comparison of cyclic fatigue resistance of WaveOne Gold, Reciproc and WaveOne files in canals with a double curvature. *Int Endod J.* 2016.

Varela-Patiño P, Ibanez-Parraga A, Rivas-Mundina B, Cantatore G, Otero XL, Martin-Biedma B. Alternating versus continuous rotation: a comparative study of the effect on instrument life. *J Endod.* 2010;36(1):157-9.

Webber W, Ruddle C. Sistema de Lima Única Reciprocante Wave One GOLD. In: Machado MEL. *Endodontia Ciência e Tecnologia*. 3ª. ed. São Paulo: Quintessence; 2016. Cap. 19, p. 247-54

Yared G. Canal preparation using only one Ni-Ti rotary instrument: preliminary observations. *Int Endod J*. 2008;41(4):339-44.

Yared GM, Dagher FE. Influence of apical enlargement on bacterial infection during treatment of apical periodontitis. *J Endod*. 1994;20(11):535-7.

You SY, Bae KS, Baek SH, Kum KY, Shon WJ, Lee W. Lifespan of one nickel-titanium rotary file with reciprocating motion in curved root canals. *J Endod*. 2010;36(12):1991-4.

Zhao D, Shen Y, Peng B, Haapasalo M. Root canal preparation of mandibular molars with 3 nickel-titanium rotary instruments: a micro-computed tomographic study. *J Endod*. 2014;40(11):1860-4.

APÊNDICE A – Resultados do teste Piloto e Cálculo da amostra (Redução percentual imediata)

	CALCULO DA AMOSTRA - PILOTO			
	OSNG	WOG	WO	OS
	96.45833	98.09692	96.04414	96.76924
	98	97.92641	96.04414	96.74035
	98.07065	98.10104	95.85102	96.59306
	96.61877	98.14167	95.11798	97.14286
	96.46811	98.10484	95.71429	95.22372
MÉDIA	97.12317	98.07417	95.75431	96.49385
DESVIO PADRÃO	0.835476	0.084512	0.382058	0.738389
	menor diferença		0.739531	
	media DP		0.510109	
	número de tratamento 4			
	poder do teste			0.8
	alfa			0.05
	número de repetições			12

APÊNCICE B - Tabela de resultados (em UFC/ml) de todas as amostras

Grupo	Amostra	S1	S2	S1-S2	%	S3	S1-S3	%
One Shape New Generation		(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
	1	24000000	850000	23150000	96.45833	1500000	22500000	93.75
	2	24000000	480000	23520000	98	1800000	22200000	92.5
	3	23666000	456600	23209400	98.07065	1566000	22100000	93.38291
	4	23660006	800000	22860006	96.61877	1200000	22460006	94.92815
	5	22660000	400000	22260000	98.23477	1100000	21560000	95.14563
	6	23066000	443000	22623000	98.07942	1230000	21836000	94.66748
	7	24666000	460000	24206000	98.13508	2600000	22066000	89.45917
	8	23000000	400000	22600000	98.26087	1000000	22000000	95.65217
	9	23000000	404300	22595700	98.24217	1543000	21457000	93.2913
	10	23000000	437600	22562400	98.09739	1376000	21624000	94.01739
	11	24000000	410000	23590000	98.29167	1100000	22900000	95.41667
	12	23520000	830700	22689300	96.46811	1855000	21665000	92.1131
Wave One Gold		(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
	1	24223833	480000	23743833	98.01848	1030000	23193833	95.74799
	2	22666000	470000	22196000	97.92641	1666000	21000000	92.64978
	3	24223833	460000	23763833	98.10104	1333000	22890833	94.49715
	4	24223833	460000	23763833	98.10104	1200000	23023833	95.0462
	5	24000000	490000	23510000	97.95833	1000000	23000000	95.83333
	6	24000000	480000	23520000	98	1333333	22666667	94.44445
	7	24000000	460000	23540000	98.08333	1400000	22600000	94.16667
	8	24800000	470000	24330000	98.10484	1200000	23600000	95.16129
	9	24000000	446000	23554000	98.14167	1100000	22900000	95.41667
	10	24223833	730000	23493833	96.98644	1600000	22623833	93.39493
	11	24223833	480000	23743833	98.01848	3033333	21190500	87.4779

	12	24223833	461000	23762833	98.09692	1600000	22623833	93.39493
Wave One		(17)	(18)	(19)	(20)	(21)	(22)	(23)
	1	20483333	849850	19633483	95.85102	2100000	18383333	89.74776
	2	21483333	849850	20633483	96.04414	2300000	19183333	89.29403
	3	20483333	849850	19633483	95.85102	1946508	18536825	90.49711
	4	20483333	1000000	19483333	95.11798	2100000	18383333	89.74776
	5	21000000	900000	20100000	95.71429	1700000	19300000	91.90476
	6	21483333	849850	20633483	96.04414	1946508	19536825	90.93945
	7	20483333	849850	19633483	95.85102	1946508	18536825	90.49711
	8	20000000	888200	19111800	95.559	1547200	18452800	92.264
	9	21483333	849850	20633483	96.04414	1946508	19536825	90.93945
	10	21000000	860000	20140000	95.90476	1200000	19800000	94.28571
	11	20800000	860000	19940000	95.86538	1300000	19500000	93.75
	12	21483333	849850	20633483	96.04414	1946508	19536825	90.93945
One Shape		(25)	(26)	(27)	(28)	(29)	(30)	(31)
	1	21666700	700000	20966700	96.76924	2100000	19566700	90.30771
	2	21066700	686700	20380000	96.74035	2100000	18966700	90.03166
	3	21333300	753300	20580000	96.4689	1946508	19386792	90.87573
	4	21000000	600000	20400000	97.14286	2100000	18900000	90
	5	22333300	1066700	21266600	95.22372	1700000	20633300	92.38805
	6	21166700	600000	20566700	97.16536	1846508	19320192	91.27635
	7	21000000	732270	20267730	96.513	1946508	19053492	90.73091
	8	20000000	603300	19396700	96.9835	1777200	18222800	91.114
	9	20666700	633300	20033400	96.93565	1946508	18720192	90.58143
	10	20666700	867000	19799700	95.80485	1300000	19366700	93.70969
	11	20000000	810000	19190000	95.95	1300000	18700000	93.5
	12	20648130	703470	19944660	96.59306	1946508	18701622	90.57296

- Número entre parênteses referen-se a identificação dos grupos nas análises estatísticas

APÊNDICE C – Estatística descritiva de antes, imediatamente e 7 dias após o preparo, bem como redução percentual

	- 1 -	- 2 -	- 3 -	- 4 -	- 5 -	- 6 -	- 7 -	- 9 -	- 10 -
Tamanho da amostra =	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Mínimo	22660000	400000	22260000	96.4583	1000000	21457000	89.4592	22666000	446000
Máximo	24666000	850000	24206000	98.2917	2600000	22900000	95.6522	24800000	730000
Amplitude Total	2006000	450000	1946000	1.8333	1600000	1443000	6.193	2134000	284000
Mediana	23590003	449800	22774653	98.0884	1438000	22033000	93.8837	24223833	470000
Primeiro Quartil (25%)	23000000	408575	22598925	97.6547	1175000	21654750	93.0935	24000000	460000
Terceiro Quartil (75%)	24000000	560000	23287050	98.2366	1624500	22265002	94.9825	24223833	480000
Desvio Interquartilico	1000000	151425	688125	0.5819	449500	610251.5	1.889	223833	20000
Média Aritmética	23519834	531016.7	22988817	97.7464	1489167	22030667	93.6937	24067417	490583.3
Variância	3456.70 E+08	3260.00 E+07	3144.20 E+08	0.5605	1981.00 E+08	1894.20 E+08	3.055	2423.30 E+08	5.83E+09
Desvio Padrão	587935.5	180555.4	560729.9	0.7487	445084	435224.3	1.7479	492269.6	76379.98
Erro Padrão	169722.4	52121.86	161868.8	0.2161	128484.7	125638.4	0.5046	142106	22049
Coeficiente de Variação	2.50%	34.00%	2.44%	0.77%	29.89%	1.98%	1.87%	2.05%	15.57%
Assimetria (g1)	0.3721	1.2626	0.9425	-1.2828	1.4505	0.5665	-1.29	-2.1376	3.3056
Curtose (g2)	-0.4803	-0.3393	0.424	-0.3311	2.6511	-0.2629	2.062	7.0995	11.2146
Média Harmônica =	23506457	489145.4	22976508	97.7411	1391490	22022855	93.6631	24057828	482915.1
N (média harmônica) =	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Média Geométrica =	23513129	507630.9	22982625	97.7438	1436682	22026750	93.6785	24062684	486290.3
N (média geométrica) =	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Variância (geom.) =	1.0003	1.0399	1.0003	1	1.0327	1.0002	1.0002	1.0002	1.0074
Desvio Padrão (geom.) =	1.0252	1.35	1.0245	1.0077	1.3128	1.0199	1.019	1.0211	1.1395

- 11 -	- 12 -	- 13 -	- 14 -	- 15 -	- 17 -	- 18 -	- 19 -	- 20 -	- 21 -	- 22 -
12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
22196000	96.9864	1000000	21000000	87.4779	20000000	849850	19111800	95.118	1200000	18383333
24330000	98.1417	3033333	23600000	95.8333	21483333	1000000	20633483	96.0441	2300000	19800000
2134000	1.1552	2033333	2600000	8.3554	1483333	150150	1521683	0.9262	1100000	1416667
23648917	98.0509	1333167	22778750	94.4708	20900000	849850	20020000	95.8582	1946508	19241667
23517500	97.9896	1175000	22617875	93.3949	20483333	849850	19633483	95.8168	1661800	18515819
23763083	98.101	1600000	23005958	95.2251	21483333	867050	20633483	96.0441	1984881	19536825
245583	0.1115	425000	388083.5	1.8302	1000000	17200	1000000	0.2273	323081	1021006
23576833	97.9614	1457972	22609444	93.9359	20888889	871429.2	20017460	95.8243	1831645	19057244
2409.80 E+08	0.0986	2958.20 E+08	5834.60 E+08	5.1257	2631.00 E+08	1.92E+09	2812.40 E+08	0.0714	1099.30 E+08	3025.30 E+08
490893.1	0.3141	543894.8	763845.3	2.264	512930.4	43847.76	530316.6	0.2671	331554.7	550031.3
141708.6	0.0907	157008.9	220503.1	0.6536	148070.3	12657.76	153089.2	0.0771	95711.61	158780.4
2.08%	0.32%	37.30%	3.38%	2.41%	2.46%	5.03%	2.65%	0.28%	18.10%	2.89%
-2.0085	-3.1966	2.4854	-1.3895	-2.3711	-0.1026	2.6917	-0.0937	-1.8833	-0.8339	-0.1777
6.7194	10.6448	7.248	1.4791	6.6113	-1.228	7.7131	-1.2527	4.1139	-0.0526	-1.971
23567115	97.9605	1342129	22584799	93.8834	20877314	869608.5	20004548	95.8236	1766526	19042626
12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
23572034	97.961	1391106	22597289	93.9101	20883106	870486.8	20011009	95.8239	1800794	19049945
12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
1.0002	1	1.0395	1.0005	1.0003	1.0003	1.001	1.0003	1	1.0173	1.0004
1.0214	1.0032	1.348	1.0351	1.025	1.0249	1.0489	1.0269	1.0028	1.2199	1.0294

- 23 -	- 25 -	- 26 -	- 27 -	- 28 -	- 29 -	- 30 -	- 31 -
12	12	12	12	12	12	12	12
89.294	20000000	600000	19190000	95.2237	1300000	18222800	90
94.2857	22333300	1066700	21266600	97.1654	2100000	20633300	93.7097
4.9917	2333300	466700	2076600	1.9416	800000	2410500	3.7097
90.9395	21000000	701735	20323865	96.6667	1946508	19010096	90.8033
90.3098	20662058	625800	19908420	96.3392	1757900	18715550	90.5066
91.9946	21208350	767475	20570025	96.9476	1984881	19371723	91.5543
1.6848	546292.5	141675	661605	0.6084	226981	656173.5	1.0476
91.2339	20962353	729670	20232683	96.5242	1834145	19128208	91.2574
2.4256	4267.70 E+08	1834.20 E+07	3624.60 E+08	0.3479	7768.60 E+07	3685.00 E+08	1.6069
1.5574	653277.5	135433.7	602048.6	0.5899	278722.8	607042.3	1.2676
0.4496	188585	39096.34	173796.5	0.1703	80460.35	175238	0.3659
1.71%	3.12%	18.56%	2.98%	0.61%	15.20%	3.17%	1.39%
0.8954	0.4389	1.4934	-0.1215	-1.0999	-1.2361	1.2431	1.1757
0.0558	0.7596	2.6228	-0.2249	0.6936	0.6341	2.8683	0.1891
91.2098	20943870	710277.7	20216193	96.5209	1787183	19111077	91.2414
12	12	12	12	12	12	12	12
91.2218	20953082	719413.3	20224449	96.5225	1812072	19119556	91.2494
12	12	12	12	12	12	12	12
1.0001	1.0004	1.0128	1.0004	1	1.0124	1.0004	1.0001
1.0171	1.0315	1.1869	1.0303	1.0061	1.1831	1.0318	1.0139

APÊNDICE D – Teste de normalidade

TESTE DE LILIEFORS	- 1 -	- 2 -	- 3 -	- 4 -	- 5 -	- 6 -	- 7 -	- 9 -	- 10 -	- 11 -	- 12 -	- 13 -
Tamanho da amostra =	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Desvio máximo =	0.1966	0.3612	0.2034	0.3826	0.1815	0.1329	0.159	0.3622	0.4197	0.3495	0.3723	0.2677
Valor crítico (0.05) =	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242
Valor crítico (0.01) =	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275
p(valor)	ns	< 0.01	ns	< 0.01	ns	ns	ns	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.05

- 14 -	- 15 -	- 17 -	- 18 -	- 19 -	- 20 -	- 21 -	- 22 -	- 23 -	- 25 -	- 26 -	- 27 -	- 28 -	- 29 -
12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
0.3284	0.2389	0.2101	0.3528	0.2106	0.2899	0.3022	0.2446	0.2416	0.1486	0.1807	0.1153	0.2126	0.2399
0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242
0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275	0.275
< 0.01	ns	ns	< 0.01	ns	< 0.01	< 0.01	< 0.05	ns	ns	ns	ns	ns	ns

- 30 -	- 31 -
12	12
0.1684	0.244
0.242	0.242
0.275	0.275
ns	< 0.05

APÊNDICE E – Comparação Intragrupo

Wilcoxon							
ResultadosCols. 1 e 2		ResultadosCols. 9 e 10		ResultadosCols. 17 e 18		ResultadosCols. 25 e 26	
T =	0	T =	0	T =	0	T =	0
Número de pares =	12	Número de pares =	12	Número de pares =	12	Número de pares =	12
Z =	3.0594	Z =	3.0594	Z =	3.0594	Z =	3.0594
p-valor (unilateral) =	0.0011	p-valor (unilateral) =	0.0011	p-valor (unilateral) =	0.0011	p-valor (unilateral) =	0.0011
p-valor (bilateral) =	0.0022	p-valor (bilateral) =	0.0022	p-valor (bilateral) =	0.0022	p-valor (bilateral) =	0.0022
ResultadosCols. 1 e 5		ResultadosCols. 9 e 13		ResultadosCols. 17 e 21		ResultadosCols. 25 e 29	
T =	0	T =	0	T =	0	T =	0
Número de pares =	12	Número de pares =	12	Número de pares =	12	Número de pares =	12
Z =	3.0594	Z =	3.0594	Z =	3.0594	Z =	3.0594
p-valor (unilateral) =	0.0011	p-valor (unilateral) =	0.0011	p-valor (unilateral) =	0.0011	p-valor (unilateral) =	0.0011
p-valor (bilateral) =	0.0022	p-valor (bilateral) =	0.0022	p-valor (bilateral) =	0.0022	p-valor (bilateral) =	0.0022
ResultadosCols. 2 e 5		ResultadosCols. 10 e 13		ResultadosCols. 18 e 21		ResultadosCols. 26 e 29	
T =	0	T =	0	T =	0	T =	0
Número de pares =	12	Número de pares =	12	Número de pares =	12	Número de pares =	12
Z =	3.0594	Z =	3.0594	Z =	3.0594	Z =	3.0594
p-valor (unilateral) =	0.0011	p-valor (unilateral) =	0.0011	p-valor (unilateral) =	0.0011	p-valor (unilateral) =	0.0011
p-valor (bilateral) =	0.0022	p-valor (bilateral) =	0.0022	p-valor (bilateral) =	0.0022	p-valor (bilateral) =	0.0022

APÊNDICE F – Comparação entre grupos – Redução imediata

KW - DUNN	IMEDIATO
Resultados	
H =	32.3796
Graus de liberdade =	3
(p) Kruskal-Wallis =	< 0.0001
R 4 =	424.5
R 12 =	425.5
R 20 =	102
R 28 =	224
R 4 (posto médio) =	35.375
R 12 (posto médio) =	35.4583
R 20 (posto médio) =	8.5
R 28 (posto médio) =	18.6667

Comparações (método de Dunn)	Dif. Postos	z calculado	z crítico	p
Postos médios 4 e 12	0.0833	0.0146	2.635	ns
Postos médios 4 e 20	26.875	4.7021	2.635	< 0.05
Postos médios 4 e 28	16.7083	2.9233	2.635	< 0.05
Postos médios 12 e 20	26.9583	4.7167	2.635	< 0.05
Postos médios 12 e 28	16.7917	2.9379	2.635	< 0.05
Postos médios 20 e 28	10.1667	1.7788	2.635	ns

APÊNDICE F – Comparação entre grupos – Redução aos 7 dias

7 DIAS	
Resultados	
H =	18.6169
Graus de liberdade =	3
(p) Kruskal-Wallis =	0.0003
R 7 =	379
R 15 =	416.5
R 23 =	188.5
R 31 =	192
R 7 (posto médio) =	31.5833
R 15 (posto médio) =	34.7083
R 23 (posto médio) =	15.7083

Comparações (método de Dunn)	Dif. Postos	z calculado	z crítico	p
Postos médios 7 e 15	3.125	0.5468	2.635	ns
Postos médios 7 e 23	15.875	2.7775	2.635	< 0.05
Postos médios 7 e 31	15.5833	2.7265	2.635	< 0.05
Postos médios 15 e 23	19	3.3243	2.635	< 0.05
Postos médios 15 e 31	18.7083	3.2733	2.635	< 0.05
Postos médios 23 e 31	0.2917	0.051	2.635	ns

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em pesquisa

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Ação do Sistema de limas Wave One Gold e One Shape New Generation em canais de molares superiores contaminados com *Enterococcus faecalis*. Estudo In Vitro

Pesquisador: Manoel Eduardo de Lima Machado

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 62729916.0.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.860.942

Apresentação do Projeto:

Simplicidade e rapidez no preparo são características destacadas nos sistemas de única que podem se diferir quanto ao seu movimento -

reciprocante e rotação contínua. Contudo, a modificação nos desenho destas limas e tratamento térmico da liga traz a evolução destes instrumentos.

O objetivo do presente estudo será comparar a redução bacteriana proporcionada por dois novos sistemas de lima única de movimentos diferentes -

Wave One e One Shape - comparando-os com seus sistemas convencionais. Para isto, 56 raízes disto-vestibulares de molares superiores

padronizados em 12 mm serão esterilizadas em óxido de etileno, e 48 espécimes serão contaminados com *Enterococcus faecalis*. Após 21 dias de

incubação a 37°C, será realizada a coleta inicial e plaqueada em triplicata em ágar M-*Enterococcus* para a análise do número de unidades

formadoras de colônia (UFC mL-1). As raízes serão aleatoriamente divididas em 4 grupos (n=12) para instrumentação: Grupo 1 - Wave One Gold;

Grupo 2 - One Shape New Generation; Grupo 3 - Wave One; e grupo 4 - One Shape. Os grupos 3 e 4 compostos pelos sistemas convencionais

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 1.860.942

serão o grupo controle, e outros 8 canais não contaminados serão o controle de assepsia. Assim, nova coleta será realizada adicionada de coleta de dentina utilizando lima hedstroem 25. Os valores em UFC ml-1 e redução bacteriana serão transformados em logarítimo para análise estatística entre grupos e intra grupos, com nível de significância de 5%.

Para este estudo, 56 raízes disto-vestibulares de molares superiores padronizados em 12 mm serão esterilizadas em óxido de etileno, e 48 espécimes serão contaminados com *Enterococcus faecalis*. Após 21 dias de incubação a 37°C, será realizada a coleta inicial e plaqueada em triplicata em ágar M-Enterococcus para a análise do número de unidades formadoras de colônia (UFC mL-1). As raízes serão aleatoriamente

divididas em 4 grupos (n=12) para instrumentação: Grupo 1 - Wave One; Grupo 2 - Wave One Gold; Grupo 3 – One Shape; e grupo 4 – One Shape

New Generation. Os grupos 1 e 3 compostos pelos sistemas convencionais serão o grupo controle, e outros 8 canais não contaminados serão o

controle de assepsia. Assim, nova coleta será realizada adicionada de coleta de dentina utilizando lima hedstroem 25. Os valores em UFC ml-1 e redução bacteriana serão transformados em logarítimo para análise estatística entre grupos e intra grupos, com nível de significância de 5%.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a ação antibacteriana dos sistemas Wave One Gold e One Shape New Generation em canais infectados com *Enterococos Faecalis*.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O presente estudo não apresenta riscos diretos ao paciente, uma vez que serão utilizados dentes provenientes do biobanco da FO-USP.

Benefícios:

A gama de diferentes sistemas de instrumentação disponíveis ao clínico é grande. O estudo vem a contribuir na escolha de um sistema que possa

ter uma melhor performance no que se refere à remoção bacteriana do sistema de canais radiculares, um dos principais responsáveis pelo surgimento das patologias periapicais.

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

**FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO**

Continuação do Parecer: 1.860.942

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pertinente e necessária.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto, Autorização do Banco de dentes e do Laboratório de Microbiologia, além do projeto: OK

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site www.saude.gov.br/plataformabrasil).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_833515.pdf	06/12/2016 12:47:35		Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	biobanco.pdf	06/12/2016 12:45:35	Manoel Eduardo de Lima Machado	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	cartamicro.pdf	06/12/2016 12:44:06	Manoel Eduardo de Lima Machado	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOFINALCEP.pdf	06/12/2016 12:43:33	Manoel Eduardo de Lima Machado	Aceito
Folha de Rosto	FR.pdf	06/12/2016 12:43:09	Manoel Eduardo de Lima Machado	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 1.860.942

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pertinente e necessária.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto, Autorização do Banco de dentes e do Laboratório de Microbiologia, além do projeto: OK

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site www.saude.gov.br/plataformabrasil).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_833515.pdf	06/12/2016 12:47:35		Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	biobanco.pdf	06/12/2016 12:45:35	Manoel Eduardo de Lima Machado	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	cartamicro.pdf	06/12/2016 12:44:06	Manoel Eduardo de Lima Machado	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOFINALCEP.pdf	06/12/2016 12:43:33	Manoel Eduardo de Lima Machado	Aceito
Folha de Rosto	FR.pdf	06/12/2016 12:43:09	Manoel Eduardo de Lima Machado	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br