VITOR CESAR NAKAMURA

**Desinfecção de canais radiculares preparados por diferentes técnicas de
instrumentação e regimes de irrigação**

São Paulo

2010

VITOR CESAR NAKAMURA

**Desinfecção de canais radiculares preparados por diferentes técnicas de
instrumentação e regimes de irrigação**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Giulio Gavini

São Paulo

2010

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

Nakamura, Vitor Cesar

Desinfecção de canais radiculares preparados por diferentes técnicas de instrumentação e regimes de irrigação / Vitor Cesar Nakamura; orientador Giulio Gavini. -- São Paulo, 2010.

90p. : tab.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Endodontia. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Canal radicular (preparo). 2. Instrumentos endodônticos. 3. Endodontia. I. Gavini, Giulio. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nakamura VC. Desinfecção de canais radiculares preparados por diferentes técnicas de instrumentação e regimes de irrigação. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: / / 2010.

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Ao professores da Disciplina de Endodontia da Universidade Guarulhos, Érico de Mello Lemos, Eduardo Calil, Andréa Sales do Prado, Kali de Fátima Amaral e Rafael Paiva Lopes. Obrigado pelo incentivo, companheirismo e amizade.

Ao Prof. Dr. Giulio Gavini, grande tutor e orientador, pela confiança depositada em mim.

Aos professores da Disciplina de Endodontia da FOU SP, por todas as lições e conhecimento infindável no qual sempre pude me apoiar.

Aos meus amigos que sempre me acompanharam, não importando os tempos, por mais difíceis que fossem.

Aos meus parentes pelo suporte e amabilidade, além da certeza de que eu poderia contar, não importando a situação.

À minha namorada, Mara Nagaoka, pelo amor e grande paciência em estar ao meu lado apesar de toda a correria e dificuldades.

Aos meus irmão Claudio e Giane, em quem me espelhei a minha vida toda com a certeza absoluta de que eu podia acreditar.

Ao meu pai e minha mãe, por absolutamente tudo...

É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se a derrota, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota.

Theodore Roosevelt

RESUMO

Nakamura VC. Desinfecção de canais radiculares preparados por diferentes técnicas de instrumentação e regimes de irrigação [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

O intuito do presente trabalho foi avaliar *in vitro* a desinfecção de canais radiculares de pré-molares inferiores humanos, variando a técnica de preparo e os regimes de irrigação utilizados. Para isso, 85 espécimes foram padronizados em comprimento e diâmetro apical e, após o devido preparo, receberam contaminação com *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* por 28 dias. Os canais foram divididos em 8 grupos: G1 - instrumentação manual associada à irrigação com solução fisiológica; G2 - instrumentação manual associada à irrigação com NaOCl à 1,0%; G3 - instrumentação manual associada à irrigação com NaOCl à 1,0% e AC à 15%; G4 - instrumentação manual associada à irrigação com NaOCl à 5,25%; G5 - instrumentação rotatória associada à irrigação com solução fisiológica; G6 - instrumentação rotatória associada à irrigação com NaOCl à 1,0%; G7 - instrumentação rotatória associada à irrigação com NaOCl à 1,0% e AC à 15%; G8 - instrumentação rotatória associada à irrigação com NaOCl à 5,25%. O grupo controle negativo foi composto por 5 dentes preenchidos com meio de cultura esterilizado. Todos os canais dos grupos experimentais foram preparados até instrumentos com diâmetro final de 0,50mm. Coletas microbianas foram realizada antes e após o PQC, com auxílio de pontas de papel esterilizadas. Raspas de dentina foram coletadas após o PQC com o intuito de verificar a ocorrência de MOs no interior dos túbulos dentinários. Não houve diferença estatística entre as técnicas de instrumentação, quanto à diminuição microbiana no interior dos canais. Quanto aos regimes de irrigação, o soro fisiológico produziu os piores resultados, seguido pelo NaOCl à 1,0%. Já quando acompanhado pelo AC, a desinfecção alcançada não demonstrou diferença estatística quanto aos grupos irrigados com NaOCl à 5,25%.

Palavras-chave: Canal radicular (preparo). Instrumentos endodônticos. Endodontia.

ABSTRACT

Nakamura VC. Disinfection of root canals prepared by different techniques of instrumentation and irrigation regimes [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia, 2010.

The purpose of this study was to evaluate the in vitro disinfection achieved in root canals of human mandibular premolars, varying the preparation technique and irrigation regimens. For this, 85 specimens were standardized in length and apical diameter, and after proper preparation were contaminated with *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* for 28 days. After this period, the canals were divided into eight experimental groups as follows: G1 - hand instrumentation with irrigation with sterile saline, G2 - hand instrumentation with irrigation with NaOCl to 1.0%, G3 - Manual instrumentation with irrigation with NaOCl to 1.0% and citric acid to 15%, G4 - instrumentation associated with irrigation with NaOCl at 5.25%; G5 - rotary instrumentation associated with irrigation with sterile saline and G6 - rotary instrumentation associated with irrigation with NaOCl to 1.0%; G7 - rotary instrumentation with irrigation with NaOCl to 1.0% and citric acid to 15%; G8 - rotary instrumentation with irrigation with NaOCl at 5.25%. Negative control group was composed of 5 teeth had their canals filled with sterile culture medium. All root canals of the specimens of experimental groups were prepared by instruments with a diameter equivalent to the tip end of 0.50 mm. Microbial samplings were performed before and after the PQC with the aid of sterilized paper points. Dentine chips were collected after the PQC in order to verify the occurrence of microorganisms inside the dentinal tubules. The results showed no statistical difference between the techniques of instrumentation, on the microbial reduction. As for systems of irrigation, saline produced the worst results followed by NaOCl 1.0%. When followed by citric acid, disinfection achieved no difference for the groups irrigated with NaOCl at 5.25%

Keywords: Root canal (preparation). Endodontic instruments. Endodontics.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AC	ácido cítrico
ATCC	american type culture collection
CRT	comprimento real de trabalho
EDTA	ácido etilenodiaminotetracético
MO	microrganismo
NaOCl	hipoclorito de sódio
NiTi	níquel-titânio
PCR	polymerase chain reaction (Reação de cadeia de polimerase)
PQC	preparo químico-cirúrgico
qPCR	quantitative polymerase chain reaction (Reação de cadeia de polimerase quantitativa)
UFC	unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 MICROBIOTA DAS AFECÇÕES ENDODÔNTICAS	13
2.2 INSTRUMENTOS ENDODÔNTICOS	19
2.3 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS EMPREGADAS EM ENDODONTIA	23
3 PROPOSIÇÃO	34
4 MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 SELEÇÃO E PREPARO DOS ESPÉCIMES	35
4.2 PREPARO DO INÓCULO	37
4.3 PREPARO QUÍMICO-CIRÚRGICO DOS ESPÉCIMES	38
4.4 COLETAS MICROBIOLÓGICAS	39
4.5 CONTROLE DE ESTERILIDADE	40
5 RESULTADOS	42
5.1 REDUÇÃO DE UFCS DE <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i> NA LUZ DOS CANAIS RADICULARES APÓS O PQC	42
5.2 REDUÇÃO DE UFCS DE <i>CÂNDIDA ALBICANS</i> NA LUZ DOS CANAIS RADICULARES APÓS O PQC	44
5.3 CONTAGEM DE UFCS DE <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i> PRESENTES NA DENTINA CIRCUNJACENTE À CAVIDADE PULPAR APÓS O PQC	45
5.4 CONTAGEM DE UFCS DE <i>CÂNDIDA ALBICANS</i> PRESENTES NA DENTINA CIRCUNJACENTE À CAVIDADE PULPAR APÓS O PQC	49
6 DISCUSSÃO	56
6.1 DA ESCOLHA DO TEMA	56
6.2 DA METODOLOGIA	57
6.3 DOS RESULTADOS	60

6.3.1 Influencia da técnica de instrumentação	60
6.3.2 Influência dos regimes de irrigação	61
7 CONCLUSÕES	65
REFERÊNCIAS	66
APÊNDICES	80
ANEXOS	90

1 INTRODUÇÃO

A fim de estabelecer um adequado plano de tratamento endodôntico, melhorando assim o prognóstico e chance de manutenção do elemento dentário na cavidade oral do paciente, cabe ao cirurgião dentista, praticante da Endodontia, ser possuidor não apenas de proficiência e conhecimento da técnica, mas também dos processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem quando da realização da terapia.

A forte tendência em se realizar o tratamento endodôntico no menor tempo possível, a qual leva ao mecanicismo e imediatismo, não pode substituir o senso crítico científico e profissional, pois os processos técnicos, de cunho tecnológico, podem evoluir e se modificar, porém, as reações biológicas continuam inalteradas. A escolha em se utilizar substâncias químicas com altíssimo poder bactericida pode, em primeiro instante, parecer algo lógico e aceitável, contudo, suas implicações biológicas atestam contra os propósitos de segurança e bem-estar do indivíduo.

É fato que a instituição do preparo rotatório mecanizado com instrumentos de NiTi simplificou a terapia endodôntica e diminuiu o tempo de sua realização. Isto certamente interferiu nos resultados obtidos pelas substâncias químicas utilizadas até então, afinal, seu período de atuação no interior do canal radicular também sofreu diminuição significativa.

O aumento da concentração dos agentes químicos, visando equilibrar a relação tempo X eficácia, foi uma solução encontrada por diversos profissionais, como meio de lograr de resultados que, do ponto de vista microbiológico, perfaziam o almejado sucesso não alcançado pelas mesmas substâncias em menores concentrações. Contudo, por vezes, ignorou-se que, apesar dos benefícios óbvios atribuídos à alteração na diluição dos fármacos, a injúria causada ao indivíduo - o qual, por acaso, porta o dente em tratamento - pode trazê-lo maiores mazelas e desconforto do que a própria doença em questão.

Assim, é eminente o questionamento acerca da melhor maneira de se livrar o canal radicular de MOs sem, contudo, oferecer riscos desnecessários ao paciente, ao mesmo tempo em que se busca atender aos anseios da própria classe

odontológica e da sociedade em geral, por tratamentos cada vez mais rápidos e eficazes.

Desta forma, a pesquisa e o desenvolvimento de novos instrumentos endodônticos, que favoreçam além da modelagem, também a desinfecção dos canais radiculares, fazem-se necessários. E, para possibilitar estes avanços, é primordial a análise dos resultados obtidos pelos instrumentos disponíveis na atualidade, tendo em vista que a evolução científica e tecnológica é um processo contínuo, no qual cada questão respondida é um novo alicerce para a etapa seguinte. Salienta-se novamente que o preparo do canal radicular com o emprego de instrumentos rotatórios tornou sua modelagem muito mais simples, segura e eficaz, quando comparada à instrumentação manual. Entretanto, não se sabe ao certo se esta diferença na qualidade do tratamento se dá também sob o ponto de vista microbiológico, principalmente quando da ampliação do canal até instrumentos de maior diâmetro.

Sabe-se, contudo, que somente a exérese parcial da dentina circunjacente ao canal contaminado não é suficiente para a eliminação da microbiota invasora. As características anatômicas do sistema formado pelos canais radiculares principais, suas anastomoses e suprimentos periféricos, impossibilitam o acesso de instrumentos de qualquer tipo à todas as regiões infectadas. Além disso, a própria estrutura da dentina, constituída de milhares de túbulos, favorece sua invasão por organismos patogênicos em seu íntimo.

Cabe às substâncias químicas a função de alcançar estes espaços, nos quais os instrumentos endodônticos não exercem ação direta. Reitera-se que a eficácia na eliminação de MOs está diretamente relacionada à concentração do agente utilizado. Porém, a mesma relação é aplicável ao seu potencial tóxico. Desta forma, cabe o questionamento “Como utilizar substâncias químicas em concentrações que sejam eficazes na desinfecção da dentina sem proporcionar riscos desnecessários à saúde do indivíduo?”. A partir desta questão, aventa-se a possibilidade de utilização de associações de propriedades distintas de duas substâncias, neste caso, o hipoclorito de sódio, em sua concentração de 1,0%, e o AC, diluído à 15%.

Como já mencionado, o acesso do agente antimicrobiano às regiões onde as células microbianas estão presentes é fator *sine qua non* para que estas substâncias atuem eficazmente. Este alcance é dificultado ora pela própria anatomia do canal

radicular, ora pela obstrução de canais periféricos e dos túbulos dentinários devido à deposição de magma dentinário oriundo da exérese da dentina pelo próprio instrumento endodôntico. Não cabe ao cirurgião dentista modificar drasticamente a anatomia do canal, desta forma, sua atuação limita-se à remoção das interferências criadas pela instrumentação. O emprego de substâncias químicas que atuem nesta camada de dentina criada, como o AC, abre não apenas as entradas dos túbulos dentinários, mas também a possibilidade do hipoclorito de sódio difundir-se mais amplamente na dentina, o que favoreceria sua ação.

Assim, neste trabalho, avaliou-se a influência de diferentes instrumentos endodônticos e de maneiras distintas de se utilizar o hipoclorito de sódio e o AC na desinfecção de canais radiculares contaminados com MOs que, reconhecidamente, possuem a capacidade de adentrar os túbulos dentinários, dificultando assim sua remoção.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MICROBIOTA DAS AFECÇÕES ENDODÔNTICAS

A etiopatogenia das alterações pulpares e periapicais é amplamente estudada e discutida na literatura. Sabe-se que a presença de MOs é fator primordial para a ocorrência de necrose pulpar, como mostra o trabalho de Kakehashi et al. (1965), no qual os autores utilizaram dois grupos de ratos, um composto por animais *germ-free* e o segundo por indivíduos normais, cuja cavidade endodôntica foi cirurgicamente exposta de maneira asséptica e mantida desta forma à cavidade bucal. Observaram a ocorrência de mortificação pulpar e formação de reabsorção óssea periapical nos indivíduos portadores de microbiota normal, enquanto que nos animais livres de germes foi notado apenas processo inflamatório com manutenção da vitalidade da polpa e, em alguns casos, nova deposição de dentina juntamente à porção exposta.

A identificação dos organismos patogênicos das doenças que acometem a polpa dentária e os tecidos periapicais é, sem dúvida, uma tarefa de suma importância. Contudo, Siqueira e Rôças (2009) por meio da metanálise de 89 artigos publicados no assunto, ressaltam que a importância não está somente na identificação dos MOs, mas também na interação entre as diversas espécies que compõem a microbiota pulpar. De acordo com os autores, o grau de complexidade destas interações torna impossível associar uma única espécie por determinada doença, sendo a “comunidade como a unidade da patogenicidade” das periodontites apicais.

Sabe-se que a microbiota presente nas doenças do canal radicular é heterogênea e altamente complexa no que tange às interações entre os MOs que a compõem, como demonstram os trabalhos de Sundqvist (1992, 1994). Autores como Foschi et al. (2005), Cook et al. (2007), Blome et al. (2008), Rôças et al. (2008), Vianna et al. (2008), Siqueira e Rôças (2009) e Subramanian e Mickel (2009), utilizaram métodos moleculares como PCR e Checkerboard no intuito de identificar os MOs responsáveis pelas diversas patologias da polpa e do periápice. Sabe-se,

assim, que cerca de 150 MOs podem ser relacionados a infecções da canal radicular, sendo que a grande maioria é representada por espécies anaeróbias estritas (Siqueira; Rôças, 2009).

Dentre estes MOs, o *Enterococcus faecalis* se destaca dada à sua alta prevalência, principalmente em casos cuja doença persiste apesar de já realizada a terapia endodôntica (Rôças et al., 2004). Estudos realizados por meio de técnicas de cultura, e teste moleculares da microbiota de canais radiculares cuja doença periapical persiste mesmo após a intervenção endodôntica, demonstram uma taxa que varia entre 24% a 77% de incidência deste MO deste MO (Sundqvist et al., 1998; Pinheiro et al., 2003; Stuart, 2006; Sakamoto et al., 2007, 2008; Siqueira; Rôças, 2008).

Fouad et al. (2005) avaliaram, por meio de PCR, a ocorrência de espécies de *Enterococci* no interior de canais radiculares de 40 dentes portadores de lesão periapical persistente à terapia endodôntica. A única espécie de *Enterococcus* observada foi *E. faecalis*, sendo sua incidência de 22%.

A prevalência de *E. faecalis* em canais radiculares de dentes com lesão endodôntica primária e secundária foi estudada também por Sedgley et al. (2006). Os autores avaliaram cada coleta por meio de culturas em placa de Petri e qPCR. Detectaram o MO em 10,2% e 79,5% das coletas através de cultura e qPCR respectivamente, e observaram uma prevalência de 67,5% em casos de infecção primária e 89,6% nos casos de retratamento.

Estes resultados aproximam-se dos dados obtidos por Gomes et al. (2006) em experimento similar no qual os autores utilizaram PCR convencional ao invés de qPCR. A presença de *E. faecalis* foi verificada em 23% dos casos, quando analisados por meio de cultura, e 79% quando avaliados por meio de PCR. Contudo, a incidência do microrganismo em canais radiculares portadores infecção primária foi estatisticamente maior do que em dentes com contaminação secundária (82% e 76%, respectivamente).

Um dos motivos que pode levar a estas altas prevalências de *E. faecalis* em casos nos quais há a necessidade de reintervenção endodôntica é a capacidade em se manter viável após longos períodos na ausência de nutrientes. Sedgley et al. (2005) testaram três hipóteses formuladas acerca da manutenção da viabilidade celular do *E. faecalis*: (i) a influência da contagem inicial de UFCs, (ii) da presença

da enzima produtora de gelatinase e (iii) a capacidade do MO em se manter viável por um período prolongado após a obturação do canal radicular. Utilizaram neste intuito 150 dentes humanos extraídos, os quais foram inoculados variando-se a cepa de *E. faecalis* (portador ou deficiente em enzima produtora de gelatinase), contagem inicial de UFCs e período de incubação. Notaram que 12 meses após a obturação de canais radiculares contaminados pelo MOs, estes de mantinham viáveis. Contudo, a presença da enzima produtora de gelatinase e a contagem inicial de UFCs não influenciaram na manutenção da viabilidade celular.

Considera-se a formação de biofilme um importante fator para a manutenção de MOs no interior do canal radicular. George et al. (2005) avaliaram a influência das condições de cultura na formação de biofilme de *E. faecalis* e em sua capacidade em penetrar nos túbulos dentinários. Quatro grupos foram estudados - grupo 1, no qual os MOs foram incubados em aerobiose em meio rico em nutrientes (All Culture Media), grupo 2, incubado em anaerobiose em meio rico em nutrientes, grupo 3, incubado em aerobiose em meio pobre em nutrientes (PBS) e grupo 4, incubado em anaerobiose em meio pobre em nutrientes, todos os grupos foram mantidos a uma temperatura de 37°C . Após o período de 21 dias, os espécimes foram analisados sob a luz da MEV por meio da qual pôde-se observar que em condições que apresentavam maior quantidade de nutrientes e presença de oxigênio, o *E. faecalis* demonstrou maior penetração nos túbulos dentinários e formação de biofilme maduro. Entretanto, o biofilme formado pelo MO em anaerobiose e em meio deficiente em nutrientes apresentou-se mais calcificado, e as células bacterianas mostraram-se aderidas à superfície das paredes do canal radicular.

Kishen et al. (2006) analisaram química e estruturalmente o biofilme formado por *E. faecalis* no interior do canal radicular de dentes extraídos, após 20, 40 e 60 dias de inoculação. Fizeram uso de microscopia eletrônica de varredura, microscopia de luz, microscopia confocal a laser, difração por raios-X, e espectroscopia infravermelha de Fourier. Os autores observaram que este MO interage quimicamente com a dentina radicular, havendo a formação de um biofilme calcificado, o qual progride por diferentes fases até alcançar sua total maturação.

Já Liu et al. (2010) objetivaram não apenas analisar o crescimento e formação de biofilme de *E. faecalis*, como também a sua susceptibilidade a NaOCl a 5,25%, em condições ricas ou pobres em nutrientes. Utilizaram para isso dentina humana e

blocos de polistireno, os quais foram contaminado e mantidos incubados em condições antagônicas de nutrientes. À observação sob a luz da microscopia eletrônica de varredura, notaram que a presença de dentina estimula à uma maior formação de biofilme. Além disso, observaram que a capacidade de produção do biofilme bacteriano é mantida na ausência de nutrientes, porém é reduzida, quando comparada à capacidade de deposição de células mantidas em meio rico. Contudo, o biofilme formado quando da privação nutricional foi menos susceptível ao NaOCl a 5,25%.

Outro fator que deve ser levado em conta é a capacidade do MO em penetrar nos túbulos dentinários. Esta característica foi estudada por Haapasalo e Ørstavik (1987), os quais utilizaram canais radiculares de dentes bovinos extraídos ausentes de cemento radicular. Os dentes foram padronizados mediante o uso de brocas cilíndricas, quimicamente preparados com NaOCl a 5,25% e EDTA-T a 17% e esterilizados previamente à contaminação com *E. faecalis*. Após três semanas, os autores observaram grandes áreas de contaminação tubular a uma profundidade de 400µm a qual, em alguns espécimes, alcançava até 1000µm.

Chivatxaranukul et al. (2008) avaliaram a a penetração de *E. faecalis* em túbulos dentinários de 16 secções radiculares instrumentados ou não, provenientes de dentes humanos extraídos. As secções foram receberam contaminação com as células bacterianas e mantidas em incubação por 8 semanas. Após este período, a extensão máxima de penetração nos túbulos dentinários foi aferido. A realização do preparo químico-cirúrgico e a manutenção da camada de magma dentinário nas paredes do canal previamente à inoculação não gerou resultados significativamente diferentes dos grupos que permaneceram sem o preparo prévio do canal radicular. Em todos os grupos observou-se grande quantidade de células no interior dos túbulos dentinários até uma profundidade média de 194µm.

Além das características supracitadas, o *E. faecalis* tem a capacidade de aderir-se ao colágeno da dentina do canal radicular, mediante a atuação da proteína adesiva ACE, o que o torna mais resistente à medicações intracanaís. O estudo de Kayaoglu et al. (2008) demonstra este mecanismo. Os autores utilizaram duas cepas isogênicas do MOs, uma portadora do gene produtor de adesina ACE, e outra deficiente neste gene. Após a exposição à digluconato de clorexidina, iodo iodoato de potássio ou hidróxido de cálcio, na presença ou não de colágeno, avaliaram a

viabilidade celular dos MOs. Observaram que a presença de gene aumenta significativamente a resistência do *E. faecalis* à medicações testadas, além disso, esta resistência aumenta ainda mais na presença de colágeno.

A inter-relação entre o *E. faecalis* com outras espécies de bactérias foi estudada por Johnson et al. (2006). Os autores realizaram ensaios de coagregação bacteriana deste MO com os seguintes MOs comumente relacionados a patologias periapicais: *Peptostreptococcus anaerobius*, *Prevotella oralis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Streptococcus anginosus*. Após os períodos de 0, 1h e 24h, os testes eram realizados em duplicata para cada cultura mista contendo *E. faecalis* e uma das bactérias relacionadas. Dos MOs testados, somente *F. nucleatum* demonstrou ter a capacidade em coagregar com *E. faecalis*.

Fungos também são parte importante da microbiota de infecções do sistema de canais radiculares. Estudos de prevalência destes MOs em canais radiculares demonstram índices que variam de 2% a 40% em casos de infecção endodôntica primária (Debelian et al., 1997; Baumgartner et al., 2000; Lana et al., 2001; Egan et al., 2002; Siqueira et al., 2002), e 3% a 22% quando avaliados apenas dentes com lesões persistentes ao tratamento endodôntico (Nair et al., 1990; Waltimo et al., 1997; Molander et al., 1998; Cheung; Ho, 2001; Hancock et al., 2001; Peciuliene et al., 2001; Pinheiro et al., 2003; Siqueira; Rôças, 2004).

Em trabalhos mais recentes, Rôças et al. (2008) avaliaram a microbiota de 17 casos de periodontite apical, os quais receberam tratamento endodôntico prévio há pelo menos um ano anteriormente à coleta. A análise feita por meio de PCR identificou 10 taxas diferentes de MOs, dentre os quais *E. faecalis* e *C. albicans*, estavam presentes em 6% e 47% dos casos, respectivamente.

Já Miranda et al. (2009) realizaram coletas microbiológicas do dorso da língua e de canais radiculares de pacientes portadores de dentes que apresentavam mortificação pulpar. As leveduras foram isoladas em placas de Petri contendo ágar Sabourad dextrose associado a cloranfenicol, e identificadas com auxílio de PCR. Observou-se no dorso de língua um índice de 45,8% de presença de fungos, enquanto que no interior do canal radicular este índice foi de 22,6%. Em ambos os sítios de coleta, 90% dos casos era observada *C. albicans* como fungo predominante.

Apesar de possuir uma estrutura com maior diâmetro que bactérias, fungos possuem a capacidade de colonizar o interior dos túbulos dentinários, como demonstrado por Sen et al. (1995). Os autores avaliaram dez dentes recém extraídos portadores de periodontite apical com rarefação óssea discernível radiograficamente. Logo após a exodontia, os dentes foram fixados em glutaraldeído a 2,5% por dez dias, período após o qual tiveram suas coroas decepadas e suas raízes clivadas longitudinalmente. A análise sob a luz da MEV demonstrou a presença de leveduras em 4 espécimes, nos quais a penetração dos fungos nos túbulos dentinários alcançou uma profundidade de 10µm a 150µm.

O preparo dos espécimes dentários, com substâncias químicas, previamente à inoculação de *C. albicans* no interior dos canais radiculares, pode definir o padrão de contaminação das paredes dentinárias, como mostra o estudo de Turk et al. (2008). Dez raízes de pré-molares inferiores humanos recém extraídos foram seccionados longitudinalmente com o emprego de discos diamantados, resultando em vinte metades, as quais foram divididas em dois grupos. O primeiro grupo não sofreu nenhum preparo, sendo realizado apenas a limpeza mecânica da luz do canal. Já o segundo grupo, foi imerso em solução de NaOCl a 2,5% por três minutos em cuba ultrassônica e, posteriormente, em EDTA a 17% também por três minutos em cuba ultrassônica. Todas as hemisseções foram então imersas em meio líquido de Sabouraud, contaminadas por cultura de *C. albicans*, e incubadas em anaerobiose por 10 dias a temperatura de 37° C. Após este período, a análise por microscopia eletrônica de varredura demonstrou que o padrão de contaminação nas duas situações difere no que tange à penetração de células no interior dos túbulos dentinários e na estrutura celular do biofilme. Enquanto o grupo sem preparo químico apresentou células densamente agregadas e pouca quantidade de hifas no interior dos túbulos dentinários, o segundo grupo possibilitou uma maior contaminação tubular e colônias de células dispersas na luz do canal.

Outro fator que pode influenciar na manutenção da viabilidade celular deste fungo, mesmo após a realização da terapia endodôntica, é a capacidade em se coagregar com outros MO (Siqueira; Sen, 2004)

A interação entre *E. faecalis* e *C. albicans* foi estudada por Ozawa et al. (1979), por meio da cultura mista de ambos os MOs em fluxo contínuo de TSB. Neste intuito, utilizaram uma cepa de *E. faecalis* ATCC e isolados de *C. albicans*

coletados clinicamente. Observou-se antagonismo entre estes MOs, sendo o fungo incapacitado de crescer adequadamente na presença da bactéria.

Contudo, em pesquisa *in vivo*, Ferrari et al. (2005) ao avaliar o efeito de procedimentos endodônticos em *enterococci*, fungos e bactéria entéricas, os autores foram capazes de coletar do interior de canais radiculares contaminados, culturas mistas, as quais possuíam *E. faecalis* e *C. albicans* em coexistência, mesmo após o PQC. Além disso, trabalhos realizados *in vitro* como de Cardoso (2006), Delgado (2007) e Aguiar (2009) conseguiram com êxito manter culturas mistas viáveis destes MOs em períodos de até 28 dias.

2.2 INSTRUMENTOS ENDODÔNTICOS

Durante o preparo do canal radicular, busca-se a remoção de tecido dentinário e pulpar de maneira a modelar o espaço endodôntico para que, ao final do procedimento, este possua uma forma cônica, cujo diâmetro diminua gradualmente no sentido cérvico-apical, respeitando a anatomia original do canal radicular, bem como o formato e posição do forame apical (Schilder, 1974). Para a correta execução desta modelagem há a necessidade de utilização de instrumentos adequados, e correta cinemática, auxiliados pelo uso de substâncias químicas apropriadas para a função.

Os instrumentos endodônticos passaram a possuir as características atuais somente após os trabalhos de Ingle (1955, 1961), até então, não apresentavam uma padronização, o que dificultava em muito a atuação do profissional.

O uso de instrumentos confeccionados de ligas metálicas de NiTi se deu a partir do estudo de Walia et al. (1988). Ao avaliar as propriedades de instrumentos de secção transversal triangular, especialmente fabricados com esta liga para este trabalho, observou-se que estes instrumentos apresentaram capacidade muito superior em relação a flexibilidade e resistência à fratura por torção, quando comparadas com instrumentos semelhantes, confeccionados a partir de ligas de aço inoxidável.

A capacidade de instrumentos rotatórios de NiTi em modelar canais radiculares é notoriamente superior aos instrumentos manuais de aço inoxidável, principalmente quando se enfatiza o tempo de preparo e manutenção da forma e posição do canal radicular (Schäfer; Florek, 2003; Schäfer; Schlingemann, 2003; Schäfer et al., 2004; López et al., 2008; Moore et al., 2009; Vaudt et al., 2009; Gergi et al., 2010). Contudo, são poucos os trabalhos que avaliaram a ocorrência de diferenças na eficácia de descontaminação da dentina radicular entre estes instrumentos.

Com este intuito, Dalton et al. (1998) realizaram um estudo *in vivo* com oitenta e quatro dentes portadores de periodontite apical de indivíduos saudáveis. Apenas primeiros e segundo molares e pré-molares portadores de um canal foram utilizados para este estudo. Após divisão em grupos semelhantes, 42 dentes foram preparados com instrumentos manuais do tipo K, os outros 42 dentes foram submetidos ao PQC com instrumentos rotatórios ProFile .04. Para cada grupamento dentário utilizado, foram padronizadas as sequências de limas a serem utilizadas. Coletas microbiológicas com pontas de papel absorvente foram realizadas antes do PQC e após cada instrumento. Após a contagem de UFC em placa de Petri, notaram não haver diferenças estatísticas significativas na eficácia de desinfecção quando do uso de instrumentos rotatório ou manuais.

De Rossi et al. (2005), no intuito de avaliar a influência da técnica de instrumentação de canais radiculares e da utilização de medicamento à base de hidróxido de cálcio na reparação de lesões periapicais, utilizaram 82 pré-molares de cães, os quais tiveram as polpas dentárias amputadas e as cavidades coronárias mantidas abertas por 7 dias, acarretando na contaminação do sistema de canais radiculares. Após este período, procederam com o selamento da cavidade com cimento de óxido de zinco, o qual permaneceu em posição até a constatação radiográfica de formação de lesão apical. Os dentes eram então reabertos e submetidos ao preparo químico-cirúrgico, sendo que os Grupos 1 e 2 eram preparados com instrumentos manuais e os Grupos 3 e 4, com instrumentos rotatórios (GT). Após o PQC, os dentes do grupo 2 e 4, recebiam medicação intracanal composta por hidróxido de cálcio e gel de clorexidina a 1,0%. Após 120 dias, à constatação radiográfica e histológica, observaram não haver diferença na

reparação de lesões quando da utilização das técnicas manual ou rotatória, contudo, o uso de medicação intracanal favoreceu a diminuição da lesão.

A influência da concentração de solução de NaOCl (0,5%, 2,5% e 5,25%) e da técnica de PQC (manual, rotatória ou híbrida) foi avaliada por Berber et al. (2006) em estudo *in vitro* realizado em 180 pré-molares inferiores extraídos, contaminados com *E. faecalis*. Após um período de 28 dias de incubação em estufa a 37° C com trocas do meio de cultura a cada 4 dias, os dentes foram submetidos ao PQC, variando-se a técnica ou concentração da substância, como citado. Ao término do preparo do canal, coletas microbianas eram realizadas da luz do canal, por meio de pontas de papel, e de duas profundidades diferentes da dentina circunjacente, com auxílio de brocas esféricas as quais produziam raspas de dentina para o exame microbiológico. A contagem de UFCs demonstrou não haver diferença entre as técnicas de instrumentação. Já com relação à substância, ficou nítida a maior eficácia do fármaco a medida em que se aumentava a concentração.

Chuste-Guillot et al. (2006) avaliaram a redução bacteriana, no interior de canais radiculares de pré-molares inferiores extraídos, contaminados previamente com *Streptococcus sanguines*, após o PQC realizado com auxílio de três diferentes marcas de instrumentos rotatórios (GT, Hero 642 e ProFile) ou pela técnica manual com instrumentos endodônticos flexíveis de aço inoxidável. Coletas microbianas do interior do canal radicular foram realizadas antes (S1), durante (S2 e S3) e após o PQC (S4). Após a leitura do número de UFCs, observaram que os instrumentos ou técnicas utilizadas não interferiram na contagem final de MOs.

Singla et al. (2010) conduziram um estudo da eficácia na desinfecção de canais radiculares, contaminados por *E. faecalis*, com o uso de instrumentos manuais de aço inoxidável ou três diferentes sistemas de instrumentação rotatória (ProTaper, ProFile .04 taper e ProFile .06 taper), avaliando também a resistência à fratura longitudinal dos espécimes após o PQC. Cinquenta pré-molares inferiores extraídos foram inoculados com suspensão de *E. faecalis* e mantidos incubados por 72 horas. Após este período, os dentes foram submetidos ao PQC até instrumentos com diâmetro de ponta de 0,40mm, na presença de solução salina esterilizada. Findo o preparo do canal, coletas microbianas foram realizadas com pontas de papel e o teste de resistência à fratura foi realizado através de uma máquina de ensaio universal. Os resultados demonstraram que os instrumentos ProTaper e ProFile .06

taper foram mais eficazes do que os dois outros instrumentos avaliados, entretanto, somente o instrumento ProFile .06 taper foi capaz de preparar adequadamente o canal sem fragilizar significativamente o dente.

Além do tipo de instrumento a ser utilizado no PQC, outro fator que deve ser observado é a quantidade de desgaste de dentina apical, determinado pelo diâmetro final da ponta do instrumento.

Rollison et al. (2002) avaliaram a eficácia na desinfecção de canais radiculares quando do uso de instrumentos rotatórios (GT e Profile), bem como da influência do alargamento apical na redução microbiana. Utilizaram para este fim canais méso-vestibulares de molares inferiores contaminados por *E. faecalis* marcados radioativamente. Os espécimes permaneceram incubados por 5 dias, período após o qual foram divididos em 4 grupos distintos, dois instrumentados por instrumentos rotatórios até instrumento número 35, e dois outros grupos preparados até instrumentos 50. O sistema de instrumentação utilizado não gerou diferença estatística nos resultados, contudo, quando os canais eram alargados até instrumentos de diâmetro de ponta equivalente a 0,50mm, a redução microbiana alcançada foi significativamente maior.

A importância do alargamento do terço apical foi avaliada por Mickel et al. (2007) por meio da contagem de UFCs após o PQC de canais radiculares de pré-molares inferiores, contaminados previamente com suspensão de *E. faecalis*. Ao término do período de incubação, 100 espécimes foram preparados endodonticamente. A escolha do primeiro instrumento a ser utilizado no PQC era realizada mediante sensação de travamento apical, após a realização do preparo do terço cervical mediante uso de brocas de Gates-Glidden. O preparo era procedido por mais três instrumentos e, depois de cada um, uma coleta microbiana era realizada com pontas de papel esterilizadas. As amostras foram semeadas em placas de Petri, nas quais eram realizadas as contagens de UFCs. Concluiu-se que ao passo em que se aumentava o diâmetro do preparo do canal, maior era a desinfecção alcançada.

Além de propiciar uma desinfecção mais eficaz pela remoção cirúrgica de dentina contaminada, o aumento do diâmetro do canal radicular até a porção apical propicia uma irrigação mais adequada, como mostra o estudo de Falk e Sedgley (2005). Neste trabalho, os autores realizaram o PQC de pré-molares inferiores até

instrumentos de número 36, 60 e 77. Findo o preparo dos canais, este receberam contaminação com inóculo de *Pseudomonas fluorescens* 5RL. A bioluminescência dos canais radiculares foi aferida antes e após a inoculação e depois de irrigação com 6mL de solução salina. Não ocorreu diferença estatística entre os grupos preparados até instrumento 60 e 77, sendo que ambos apresentaram maior redução de MOs do que os dentes instrumentados até o diâmetro 36.

2.3 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS EMPREGADAS EM ENDODONTIA

Das substâncias químicas utilizadas em endodontia o NaOCl, em suas diversas concentrações, é uma das mais utilizadas, devido a seu alto potencial antimicrobiano (Mohammadi, 2008).

Siqueira et al. (2007) avaliaram a eficácia antimicrobiana do NaOCl a 2,5% e da medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio associado a paramonoclorofenol canforado (PMCC). Neste intuito, utilizaram onze pré-molares inferiores portadores de periodontite apical crônica, os quais foram submetidos ao PQC, com instrumentos de NiTi manuais, e medicados com hidróxido de cálcio/PMCC por 7 dias. Coletas microbiana foram realizadas antes e depois do preparo do canal, e após a remoção da medicação intracanal. A análise microbiana foi realizada por meio de PCR. O PQC com NaOCl a 2,5% não foi capaz de eliminar os MOs em todos os canais avaliados, pois 5 continham bactérias em suas luzes. Após a utilização da medicação, este índice melhorou, caindo para apenas 1 o número de canais contaminados.

Com o mesmo intuito, Siqueira et al. (2007) utilizaram novamente ensaios de PCR e cultura de MOs de amostras microbiológicas de dentes portadores de periodontite apical crônica, antes e após o PQC com o emprego de NaOCl a 2,5% ou gluconato de clorexidina a 0,12%. Dos 16 dentes irrigados com NaOCl, seis demonstraram culturas negativas após o PQC, este número aumentou para 8 quando do emprego de clorexidina, não havendo, entretanto, diferença estatística entre estes grupos. O ensaio de identificação das espécies encontradas no interior

dos canais demonstrou que a família de MOs mais observada foi *Streptococci*, correspondendo a 6 dos 13 MOs isolados.

A eficácia antimicrobiana do NaOCl a 2,5% e 5,25% e da hidroclorida de octenidina a 50% e 100% foi avaliada por Tirali et al. (2009) em teste de diluição em caldo. Os tempos de eliminação de *S. aureus*, *E. faecalis* e *C. albicans* de cada substância foram registrados e analisados estatisticamente. A hidroclorida de octenidina a 100% demonstrou o menor tempo para eliminação dos MOs, seguida pela mesma substância na concentração de 50%, depois pelo NaOCl a 5,25% e, por último pelo hipocorito de sódio a 2,5%. Os autores concluíram que a eficácia antimicrobiana está diretamente relacionado ao tipo de fármaco utilizado e à sua concentração.

Também no intuito de avaliar a eficácia antimicrobiana do NaOCl em diversas concentrações (0,5%, 1,0% e 2,5%), Câmara et al. (2009) utilizaram 50 pré-molares inferiores, inoculados com *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* e *S. aureus* mantidos incubados por 48 horas. Dez dentes foram instrumentados com cada uma das concentrações de NaOCl citadas e instrumentos rotatórios ProTaper, dez dentes foram irrigados preparados na presença de solução salina (controle positivo) e outros dez dentes foram mantidos esterilizados, sendo também preparados com solução salina. Coletas microbianas foram realizadas antes do PQC e a pós cada instrumento. Todos os espécimes do grupo controle positivo apresentaram contaminação ao término do preparo do canal, já os dentes instrumentados na presença de NaOCl, após a utilização do instrumento S1 já estavam livres de contaminação, com exceção de um espécime irrigado com NaOCl a 0,5%, no qual os MOs foram eliminados somente após o emprego do instrumento S2.

Retamozo et al. (2010) testaram o tempo mínimo de contato do NaOCl, em concentrações de 1,3%, 2,5% e 5,25%, para que ocorra a total eliminação de *Enterococcus faecalis* em cilindros de dentina de dentes bovinos. Após um período de 3 semanas incubados em BHI inoculado com *E. faecalis*, os cilindros de dentina foram expostos às soluções por período de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 minutos. Os cilindros foram então inseridos em tubos contendo BHI esterilizado, e incubados por 72 horas. Observou-se que apenas NaOCl em concentração de 5,25% foi capaz de eliminar totalmente o *E. faecalis* dos cilindros de dentina, necessitando, para isso, um intervalo de 40 minutos.

Chandra et al. (2010) avaliaram a eficácia antifúngicas das soluções de NaOCl a 5,25%, gluconato de clorexidina à 2,0% e EDTA à 17%, com e sem a adição de clotrimazol à 1,0%, em suas formulações. Após o PQC, sessenta e cinco dentes foram esterilizados e inoculados com suspensão de *C. albicans* por 96 horas. Ao término deste período, os dentes foram irrigados com uma das substâncias avaliadas. Amostras do conteúdo dos canais radiculares foram coletadas após a irrigação e semeadas em placas de Petri contendo ágar Sabouraud. A contagem de UFCs demonstrou que o NaOCl foi mais eficaz em eliminar a *C. albicans* do interior dos canais radiculares do que a clorexidina e o EDTA, o qual promoveu os piores resultados. A inclusão de clotrimazol 1,0% gerou contagens de UFCs menores para todas as substâncias analisadas.

Além da concentração da substância, seu pH pode também influenciar em sua eficácia antimicrobiana, como mostra o trabalho de Mercade et al. (2009). Os autores utilizaram 65 dentes unirradiculares humanos, os quais foram submetidos ao PQC e inoculados por *E. faecalis* por 48 horas. Ao término do período de incubação, cada dente recebeu irrigação com 0,2mL de NaOCl a 4,2% com pHs de 12, 7,5 ou 6,5 por um período de 5 minutos. Amostras microbiana foram coletadas dos canais, inoculadas em tubos de centrifuga contendo BHI e mantidas incubadas por 48h. O aspecto de turbidez do meio foi utilizado como indicativo da manutenção de MOs viáveis no interior do canal após a irrigação. Os resultados demonstraram que o hipoclorito em faixas de pHs mais baixas possui maior eficácia na eliminação de MOs.

Como a resistência à substância antimicrobianas é diferente em bactéria planctônicas e agrupadas em biofilme, Dunavant et al. (2006) avaliaram a eficácia de substância químicas, utilizadas na irrigação do canal radicular, contra o biofilme formado por *E. faecalis*. Placas contendo biofilme foram expostos por 1 ou 5 minutos a NaOCl a 1,0% ou 6,0%, Smear Clear, digluconato de clorexidina a 2,0%, REDTA e MTAD. Por meio da contagem de UFCs, observou-se que o NaOCl nas duas concentrações foi igualmente eficaz na remoção do biofilme, sendo sua ação significativamente superior às demais substâncias avaliadas.

Chávez De Paz et al. (2010) avaliaram os efeitos de solução alcalina (pH=12), digluconato de clorexidina a 2,5%, EDTA (50mol/L) e NaOCl a 1,0% no biofilme formado por *E. faecalis*, *L. paracasei*, *S. anginosus* e *S. gordonii*. O biofilme,

formado em placas hidrofílicas por 24 horas, foi exposto a uma das substâncias citadas por 5 minutos e, então, caracterizado por marcadores fluorescentes indicativos de integridade celular e analisado sob microscópio confocal a laser. O NaOCl a 1,0% foi a substância mais eficaz, rompendo a integridade de todos os MOs e removendo a maior parte do biofilme formado, já o EDTA, afetou a integridade celular das bactérias, porém, causou mínimos danos ao biofilme. O digluconato de clorexidina causou pequenas alterações na integridade da membrana de *E. faecalis*, além de remover apenas 50% do biofilme.

A suscetibilidade do biofilme formado por *E. faecalis* a NaOCl a 6,0%, puro ou com modificadores de superfície (Chlor-XTRA), e a digluconato de clorexidina a 2,0%, também puro ou com modificadores de superfície, foi avaliada por Williamson et al. (2009). Os autores expuseram o biofilme microbiano, formado em lâminas de microscópio, às diferentes substâncias por períodos de 1, 3 e 5 minutos. A contagem de UFCs, realizada após a exposição às substâncias, demonstrou que ambas as formas do NaOCl a 6,0% foram mais eficazes que os dois compostos de clorexidina.

Fica assim clara a eficácia do NaOCl como agente antimicrobiano, contudo, Pappen et al. (2010) aventaram acerca da influência da albumina do soro sanguíneo em sua capacidade de eliminar MOs. No intuito de avaliar esta possibilidade, expuseram culturas mistas de *E. faecalis*, *C. albicans*, *S. epidermidis* e *E. coli* a soluções de hipoclorito em concentrações de 2,0% a 0,3%, misturado com albumina de soro bovino em concentrações de 6,7% a 0,1% em diferentes tempos. Após a contagem de UFCs, observaram que a presença de albumina reduz de fato a capacidade antimicrobiana do NaOCl, sendo esta redução dependente diretamente da concentração de albumina presente.

Outra característica inerente ao NaOCl digna de ser salientada é a capacidade de dissolução de tecido orgânico, a qual foi estudada em 1977 por Trepagnier et al.. Os autores utilizaram tecido necrótico pulpar, o qual foi exposto a esta substância nos tempos de 1, 5, 15 e 60 minutos, às suas concentrações de 0,5%, 2,5% e 5,0%. A mensuração quantitativa da dissolução alcançada foi realizada por meio da aferição dos valores de hidroxiprolina, substância presente no colágeno do tecido dissolvido. Concluíram que em sua concentração de 5,0% e 2,5%, o NaOCl foi eficiente na dissolução de tecido necrótico pulpar no período de 5 minutos. Já na concentração de 0,5%, esta capacidade fica comprometida à 65%.

Com o mesmo intuito, Hand et al. (1978) compararam o NaOCl em suas diluições de 0,5%, 1,0%, 2,5% e 5,0%, quanto à sua capacidade de dissolver material orgânico, em tecido pulpar necrótico. Observaram que o tempo de dissolução do tecido era menor, quando este era exposto à substância em sua concentração de 5,0%, em relação à diluição de 2,5%. Já as concentrações de 1,0% e 0,5%, demonstraram os piores resultados, não diferindo estatisticamente entre si. Além disso, os autores puderam concluir que quando maior a área de contato da substância com o tecido, menor o tempo de diluição.

Okino et al. (2004) verificaram a eficácia de dissolução tecidual do digluconato de clorexidina em solução aquosa e em gel, em comparação ao NaOCl a 0,5%, 1,0% e 2,5%. Fragmentos de tecido pulpar de dentes bovinos eram inseridos em tubos contendo uma destas soluções, e centrifugados até a ocorrência de sua total dissolução. O digluconato de clorexidina em ambas as formas foram ineficazes em dissolver tecido orgânico em um período de 6 horas. Já o NaOCl, foi eficaz na dissolução, estando o tempo necessário para isto ocorra relacionado com a concentração da substância.

Outras substâncias foram testadas também quanto à sua capacidade de dissolução tecidual por Naenni et al. (2004). Amostras de tecido mucoso retirado do palato de porcos foram imersos em 30mL de NaOCl a 1,0%, digluconato de clorexidina a 10%, peróxido de hidrogênio a 3% ou 30%, ácido peracético 10% ou diclorocianureto 5% ou AC a 10%, e mantidos à 37° C por períodos que variavam de 15 a 120 minutos. Após o período de exposição, os espécimes eram secos, e a perda de peso ocorrida calculada. Das substâncias avaliadas, somente o NaOCl foi capaz de produzir diminuição significativa de massa do tecido mucoso.

A influência da concentração, valor de pH e tempo de exposição ao NaOCl na degradação de tecido muscular de porcos foi avaliada por Christensen et al. (2008). As duas concentrações analisadas foram de 2,6% e 5,25%, com variação do valor de pH de 12, 9 e 6, e o tempo de exposição de 5, 15 e 30 minutos. A diferença entre o peso inicial e final foi calculada para cada amostra. Os resultados demonstram que a dissolução tecidual não foi estatisticamente significativa quando do emprego da solução em pH 12 e 9, entretanto, o NaOCl em pH 6 teve uma eficácia menor. Além disso, quanto maior a concentração e o tempo de exposição, maior a quantidade de tecido degradado pela substância.

Apesar da capacidade antimicrobiana e da ação de dissolução tecidual apresentada pelo NaOCl, discute-se a segurança da sua utilização, haja vista os diversos relatos de acidentes e danos teciduais ocorridos e registrados na literatura (Witton; Brennan, 2005; Gursoy et al., 2006; Mehdipour et al., 2007; Crincoli et al., 2008; Kleier et al., 2008; Baldwin et al., 2009; De Sermeño et al., 2009; Doherty et al., 2009; Motta et al., 2009).

Em vista disso, Pashley et al. (1985) estudaram os efeitos citotóxicos do NaOCl a 5,25% em tecido vital, por meio de três modelos experimentais distintos. Mesmo em diluições de 1:1000, o NaOCl causou a hemólise total de hemácias *in vitro*. Já no teste de reações inflamatórias em olhos de coelhos, a substância não diluída e em diluição de 1:10 gerou resposta celular moderada e reversível em um período de 24h a 48h. Quando da injeção intradermal, na pele de ratos, a solução não diluída e em diluições de 1:1, 1:2 e 1:4 causaram danos teciduais severos, com formação de ulcerações.

Heling et al. (2001) avaliaram o NaOCl e o dicloroisocianureto quanto às concentrações mínimas necessárias para causar morte celular, em culturas de fibroblastos, e ação bactericida em *S. sobrinus*, *S. salivarius*, *S. mutans* e *E. faecalis*. Quanto à ação tóxica destas substâncias, o dicloroisocianureto mostrou letal aos fibroblastos em concentrações superiores a 0,02%, da mesma forma, o NaOCl promoveu a morte celular quando em concentrações maiores do que 0,01%. Ambas as substância demonstraram ser igualmente eficazes na eliminação dos MOs testado a partir de concentrações entre 0,157% e 0,625%, dependendo do MO.

Também Chang et al. (2001) estudaram a citotoxicidade do NaOCl e do digluconato de clorexidina, em culturas de células de ligamento periodontal humano, bem como suas influências na síntese protéica destas células. As concentrações analisadas variavam de 0,025% a 0,4% de NaOCl, e 0,0001% a 0,1% de digluconato de clorexidina, em períodos de 3h e 24h. Os autores observaram que ambas as soluções foram citotóxicas para as células testadas, mas somente a clorexidina foi capaz de inibir a síntese de proteínas.

Zhang e Torabinejad (2003) utilizaram culturas de fibroblastos para avaliar a biocompatibilidade de substâncias comumente empregadas durante o tratamento endodôntico. Após 24 horas de contato com cada substância, testes de MTT-Tetrazolium eram realizados a fim de calcular quão tóxica era cada substância para

as culturas de células. De acordo com os resultados, as substâncias avaliadas, em ordem decrescente de toxicidade foram: eugenol, H₂O₂ a 3,0%, paste de hidróxido de cálcio, NaOCl a 5,25%, digluconato de clorexidina a 0,12%, EDTA, MTAD (tetraciclina, AC e tween 80), e NaOCl nas concentrações de 2,63%, 1,31% e 0,66%.

Ainda sobre a biocompatibilidade do NaOCl, Gomes-Filho et al. (2008) avaliaram a resposta inflamatória, em tecido conjuntivo de subcutâneo de ratos, quando da injeção de 0,1mL de soro fisiológico a 0,9%, NaOCl a 2,5% e 5,25%, e gluconato de clorexidina a 2,0% em solução aquosa ou gel. Após períodos de 2h, 48h, 14 dias e 30 dias, ratos eram sacrificados e amostras de tecido da região da injeção eram removidos cirurgicamente e analisados sob microscopia de luz. Observou-se a solução fisiológica a 0,9%, gluconato de clorexidina a 2,0% em solução e NaOCl a 2,5% apresentaram boa biocompatibilidade, estando a região da injeção demonstrando reação inflamatória leve após 14 dias e total reparação em 30 dias. Já a clorexidina em forma de gel, apresentou inflamação moderada em 14 dias e reparação aos 30 dias. A substância a apresentar maior citotoxicidade foi o NaOCl a 5,25%, a qual apresentou resposta inflamatória severa tanto com 2 semanas, quanto com 30 dias.

Outra característica fundamental das substâncias químicas utilizadas durante a terapia endodôntica é a ação sobre matéria inorgânica resultante, em geral, da atuação dos instrumentos endodônticos nas paredes dentinárias do canal radicular.

Dentre esta substância, destaca-se o AC, cuja atividade desmineralizadora foi estudada por Loel (1975). Por meio de observações realizadas sob microscopia eletrônica de varredura, o autor relatou que a utilização do ácido em concentração de 50% por 2 minutos, seguida pela irrigação com NaOCl a 5,25%, durante o preparado dos canais radiculares, resultava em paredes mais limpas e mais permeáveis a corantes. Além disso, propiciava uma melhor adaptação do material obturador às paredes do canal.

Gavini et al. (1994) avaliaram a eficácia de diferentes regimes de irrigação na remoção de magma dentinário das paredes de canais radiculares, preparados com instrumentos manuais. Foram comparadas as substâncias químicas utilizadas - EDTA-T a 17% e AC a 25% - e o volume de irrigação empregado (3 mL da solução estudada seguido por 3 mL de líquido de Dakin, ou 6 mL da solução avaliada seguido por 6 mL de hipoclorito de sódio). Os espécimes foram clivados e avaliados

sob microscopia eletrônica de varredura quanto às condições de limpeza das paredes do canal radicular. Observou-se que a remoção do magma dentinário depende diretamente do volume e do tipo de substância utilizada.

As propriedades da solução de AC, como agente irrigante no preparo de canais radiculares, foram estudadas por Yamaguchi et al. (1996). Os autores avaliaram a eficácia desta substância em diferentes concentrações, na descalcificação de misturas pulverizadas de dentina e resina, bem como na eliminação de MOs isolados de canais radiculares portadores de periodontite apical, realizando comparações com soluções de EDTA. De acordo com os resultados, as soluções de AC a 0,5, 1 e 2M foram mais eficazes do que o EDTA a 0,5M, na dissolução de dentina pulverizada. Além disso, esta substância demonstrou possuir potencial antimicrobiano significativa contra MOs anaeróbios facultativos e estritos.

Akisue e Gavini (2000) avaliaram o efeito do EDTA à 17% e do AC à 25%, em diferentes tempos de exposição, na microdureza dentinária de fragmentos de dentina. Após os períodos de 3 e 15 minutos, nos quais os fragmentos ficaram imersos nas soluções, a dureza Knoop foi aferida. De acordo com os resultados, o AC foi significativamente mais eficaz em reduzir a dureza da dentina do que o EDTA, e quanto maior o tempo de exposição a estas substâncias, maior é esta redução.

De maneira semelhante, Eldeniz et al. (2005), testaram além da microdureza da dentina, também a rugosidade superficial de fragmentos de dentes humanos extraídos, após o tratamento químico com AC a 19% e EDTA a 17%, por um período de 150s. Como no trabalho anterior, o AC promoveu maior redução da dureza da dentina e, além disso, gerou superfícies mais rugosas.

Já De-Deus et al. (2006) ao avaliar a microdureza da dentina quando da exposição à EDTA à 17%, EDTAC à 17% e AC à 10%, em diferentes tempos, observaram que, nesta concentração, o AC é menos eficaz em reduzir a dureza dentinária do que ambas as soluções de EDTA. A adição de Cetavlon ao EDTA (EDTAC) não influenciou significativamente nos resultados.

A ação desmineralizante das mesmas substâncias,, em hemi-seções de pré-molares extraídos, foi analisada por De-Deus et al. (2006). Os autores observaram as alterações estruturais da dentina, quando da exposição a EDTA à 17%, EDTAC à 17% e AC à 10%, por meio de microscopia de força atômica. As imagens adquiridas foram avaliadas qualitativamente em teste duplo-cego. Novamente, a inclusão de

Cetavlon não influenciou nos resultados gerados pelo EDTA, já o AC na concentração de 10% foi o mais eficaz em promover a desmineralização da dentina radicular.

Pérez-Heredia et al. (2006) avaliaram de forma qualitativa, por meio de microscopia eletrônica de varredura, as condições de limpeza de canais radiculares após o PQC com instrumentos manuais ou rotatórios, e diferentes agentes de irrigação (AC a 15% seguido por NaOCl à 2,5%, EDTA à 15% também seguido por NaOCl a 2,5%, ácido ortofosfórico à 5% mais NaOCl a 2,5% e NaOCl à 2,5% apenas). De acordo com os resultados obtidos, a irrigação com AC promoveu a melhor limpeza, seguida da utilização de EDTA e ácido ortofosfórico, o qual demonstrou os piores resultados. O emprego de NaOCl apenas não foi eficaz na remoção de magma dentinário e debris.

A capacidade antimicrobiana do AC também foi estudada por autores como Smith e Wayman (1986). Testes de diluição em caldo foram realizados para avaliar a eficácia do AC em concentrações de 25% e 50%, e NaOCl à 5,25%, em períodos de 5 e 15 minutos. Os resultados das contagens de UFCs demonstraram que o AC em ambas as concentrações apresenta, de fato, capacidade em eliminar MOs, contudo, sua eficácia é menor do que do NaOCl à 5,25%.

Da mesma forma, Nikolaus et al. (1988) avaliaram os efeitos do AC à 50% e NaOCl à 5,25% em bactérias anaeróbias isoladas do interior de canais radiculares portadores de periodontite apical, nos mesmos intervalos de tempo do trabalho anterior. Averiguaram que AC nesta concentração foi igualmente eficaz em eliminar os MOs ao NaOCl à 5,25%.

Em estudo similar, Georgopoulou et al. (1994) demonstraram que o AC a 25% possui capacidade antimicrobiana contra bactérias anaeróbias, porém esta é inferior à apresentada pelo NaOCl à 2,5%, mesmo após 60 minutos de exposição à substância.

Siqueira et al. (2002) avaliaram a influência da técnica de instrumentação e do regime de irrigação, utilizados durante o PQC, na desinfecção de canais radiculares contaminados por *E. faecalis*. As técnicas utilizadas foram: técnica de movimentos rotatórios alternados, com instrumentos de NiTi manuais, e instrumentação rotatória mecanizada com instrumentos Great Taper. Já os regimes de irrigação avaliados foram: irrigação com NaOCl à 2,5% apenas; NaOCl à 2,5% seguido de AC à 10%; e

NaOCl à 2,5% seguido de gluconato de clorexidina à 2,0%. Amostras do conteúdo dos canais radiculares foram coletadas antes e após o preparo dos canais e inoculados em placas de Petri contendo ágar Mitis-Salivarius. A contagem de UFCs demonstrou não haver diferença estatística entre as técnicas de instrumentação e regimes de irrigação utilizados, apresentando, todos os grupos, eficácia em reduzir significativamente a quantidade de MOs presentes no interior do canal radicular.

Krause et al. (2007) compararam os efeitos antimicrobianos do MTAD, doxiciclina (100mg/mL), AC a 10% e NaOCl à 5,25% em dentes bovinos contaminados com cultura de *E. faecalis* e por meio de teste de difusão em ágar. Após 2 semanas de incubação em caldo inoculado com a bactéria, as luzes dos canais radiculares dos dentes bovinos recebiam irrigação com uma das substâncias por 10 minutos. A coleta microbiana foi realizada por meio do desgaste com brocas da dentina circundante ao canal radicular. No teste de difusão em ágar, o NaOCl gerou áreas de inibição menores do que o MTAD, o qual, por sua vez, produziu área inferior à doxiciclina, já o AC, foi o menos eficaz. Os resultados das amostras das raspas de dentina demonstraram que o NaOCl foi superior às demais substâncias nas duas profundidades estudadas. Tanto o MTAD quanto o AC foram ineficazes em eliminar o *E. faecalis* neste modelo experimental.

A concentração e tempo de exposição mínimos necessários para que as soluções de EDTA, AC e ácido fosfórico exerçam ação bactericida, contra cultura de *E. faecalis*, foram avaliados por Arias-Moliz et al. (2008). O modelo de pesquisa utilizado foi o método de diluição em caldo, com tempos de exposição à substância de 0,5 à 60 minutos. De acordo com os resultados, o EDTA não apresenta capacidade antimicrobiana mesmo após 60 minutos de contato com o MO. Já a concentração mínima para que o AC e o ácido fosfórico apresentem ação bactericida foi de 20% e 2,5%, respectivamente, sendo que o ácido fosfórico necessita de tempo significativamente menor para que esta capacidade seja exercida.

A biocompatibilidade do AC e do EDTA-T foi analisada Scaife et al. (2001). Os autores expuseram cultura de fibroblastos à estas substâncias, diluídas em concentrações de 1,0%, 0,1% e 0,01%. A viabilidade celular foi calculada após o contato imediato, em períodos de 6, 12 e 24 horas e 1, 3, 5 e 7 dias. Nas primeiras 24 horas, não houve diminuição na viabilidade celular nos grupos avaliados, com exceção do EDTA-T à 1,0%, o qual causou redução progressiva desta viabilidade

neste período. No período de 1 a 7 dias, o AC demonstrou-se mais biocompatível do que o EDTA-T, porém, todos os grupos experimentais demonstraram não inibir o crescimento celular, excetuando, novamente, o EDTA-T a 1,0%, o qual promoveu inibição total do crescimento celular.

Da mesma maneira, Malheiros et al. (2005) avaliaram a citotoxicidade das soluções de EDTA à 17% e AC nas concentrações de 10%, 15% e 25%, diluídas em 0,1% e 0,5% em meio de cultura com fibroblastos. Somente o EDTA a 17% diminuiu a viabilidade celular nas primeiras 24 horas. Quando o período avaliado era de 1 a 7 dias, o AC à 25% e o EDTA a 17% inibiram o crescimento celular, já as demais concentrações de AC, mostraram-se biocompatíveis às culturas de fibroblastos.

Com o mesmo intuito, Amaral et al. (2007) expuseram culturas de macrófagos ao contato direto com EDTA à 17% e AC a 15% em períodos semelhantes aos observados no trabalho acima. Ambas as substâncias demonstraram citotoxicidade à cultura de macrófagos. O AC foi, contudo, menos tóxico do que o EDTA no período de 1 a 7 dias.

Já Zaccaro Scelza et al. (2010), avaliaram os efeitos tóxicos das soluções de AC a 10%, EDTA à 17% e EDTA-T na mesma concentração, em defeitos ósseos cirurgicamente produzidos bilateralmente em mandíbulas de ratos. Um lado da mandíbula recebia somente esponja de Fibrinol no interior da ferida, como controle experimental. O outro lado era preenchido com Fibrinol embebido na solução a ser avaliada. Após períodos de 1, 7, 14 e 28 dias, 5 ratos eram sacrificados, e suas mandíbulas eram preparadas para análise sob microscopia de luz. As imagens adquiridas foram digitalizadas, e o número de células inflamatórias nas regiões foram contadas com auxílio de software de análise de imagens. Do primeiro ao 14º dia, o AC provocou menores respostas inflamatórias nos tecidos, seguido pelo EDTA e, por último o EDTA-T. Ao 28º dia, o número de células inflamatórias na região era similar para todas as substâncias avaliadas.

3 PROPOSIÇÃO

O intuito deste trabalho foi avaliar a influência da técnica de instrumentação - manual ou rotatória - e do regime de irrigação na desinfecção de pré-molares inferiores humanos extraídos, os quais foram previamente contaminados com *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*.

Como objetivos específicos, avaliou-se, após o preparo químico-cirúrgico dos canais, a contaminação remanescente na luz do canal principal destes dentes, bem como das paredes de dentina circunjacente.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O preparo dos espécimes e os ensaios foram realizados nas dependências da Faculdade de Odontologia e nos laboratórios de microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo mediante a prévia autorização do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (anexo A).

4.1 SELEÇÃO E PREPARO DOS ESPÉCIMES

Um total de 85 pré-molares inferiores humanos portadores de uma única raiz foi requisitado ao Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo após a apreciação deste projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Os dentes foram radiografados para constatar a existência de um único canal radicular e a ausência de tratamento endodôntico prévio, reabsorções internas, calcificações, dilacerações radiculares e outras alterações anátomo-patológicas, sendo utilizados somente dentes que apresentaram estas características. Os espécimes foram acondicionados em potes de vidro contendo solução fisiológica a 0,9% (Laboratório Sanobiol Ltda, São Paulo, SP, Brasil), onde permaneceram por um período mínimo de 7 dias para sua reidratação.

Ao término do período de hidratação, as coroas dos pré-molares foram seccionadas transversalmente, com discos diamantados (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil), de forma a padronizar o comprimento dos remanescentes radiculares em 15,0mm. As coroas amputadas puderam ser devolvidas ao Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para possibilitar sua reutilização em outras pesquisas.

Os canais radiculares foram explorados com auxílio de instrumento manual tipo K número 25 (Dentsply Maillefer, Baillagues, Suíça) até que sua ponta pode ser visualizada justaposta ao forame apical. Considerou-se apenas dentes cujo forame

apical apresentaram um diâmetro equivalente à lima utilizada para sua exploração (0,25mm), isto pôde ser constatado com a resistência do instrumento em se deslocar ao atingir a emergência foraminal.

Com o auxílio de um disco diamantado de 0,2mm de espessura (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil), sulcos transversais de 0,5mm de profundidade foram criados na periferia de cada dente a 5,0mm e 10,0mm do ápice para possibilitar sua clivagem em etapas posteriores da pesquisa.

Os dentes foram, então, imersos em uma cuba ultrassônica contendo EDTA-T a 17% (Fórmula e Ação Laboratórios de Manipulação, São Paulo, SP, Brasil) por 3 minutos, seguido por NaClO a 5,25% em pH 9,0 (Fórmula e Ação Laboratórios de Manipulação, São Paulo, SP, Brasil) por mais 5 minutos e, por fim, água destilada por 3 minutos, removendo assim todo o magma dentinário e restos orgânicos. Em seguida, as raízes foram secas e totalmente pinceladas com esmalte de unha colorido (Procosa Produtos de Beleza Ltda, São Paulo, SP, Brasil), excedendo-se o orifício de entrada do canal radicular e a emergência foraminal. Após uma hora, nova camada de esmalte foi aplicada por cima da primeira no intuito de impermeabilizar a superfície radicular.

Após um período de secagem de 24 horas, os dentes foram individualmente incluídos em tubos de microcentrífuga de 1,5 mL (CRAL - Artigos para Laboratório Ltda, São Paulo, SP, Brasil) com auxílio de material de moldagem dentário à base de silicone de condensação (Vigodent S/A Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), e autoclavados a 121°C durante 15 minutos. Para comprovar a esterilidade do material, os espécimes foram mantidos em estufa a 37°C por 24 horas.

Oitenta espécimes puderam ser então divididos aleatoriamente em 12 grupos experimentais distintos como se segue:

- Grupo 1 – instrumentação manual (K-Files - Dentsply Maillefer, Baillagues, Suíça) + soro fisiológico estéril (n=10)
- Grupo 2 – instrumentação manual + NaClO 1% em pH 9,0 (n=10)
- Grupo 3 – instrumentação manual + NaClO 1% em pH 9,0 + AC a 15% (Fórmula e Ação Laboratórios de Manipulação, São Paulo, SP, Brasil) (n=10)
- Grupo 4 – instrumentação manual + NaClO a 5,25% em pH 9,0 (n=10)

- Grupo 5 – instrumentação rotatória (ProTaper - Dentsply Maillefer, Baillagues, Suíça) + soro fisiológico estéril (n=10)
- Grupo 6 – instrumentação rotatória + NaClO a 1% em pH 9,0 (n=10)
- Grupo 7 – instrumentação rotatória + NaClO a 1% em pH 9,0 + AC a 15% (n=10)
- Grupo 8 – instrumentação rotatória + NaClO a 5,25% em pH 9,0 (n=10)

4.2 PREPARO DO INÓCULO

O preparo do inóculo foi realizado a partir de 50µL de cepa de *E. faecalis* ATCC 29212, o qual foi incubado em 50 mL de meio de cultura de caldo de soja tripticase (TSB) em condições de aerobiose, no interior de estufa à 37° C por um período de 24 horas. A densidade do inóculo foi calibrada até que sua turbidez alcança-se o grau 4 de McFarland, correspondente à $1,2 \times 10^9$ UFC por mL. Da mesma forma, 50µL de *C. albicans* de cultura isolada clinicamente foi inoculado em 50mL de TSB, o qual foi incubado por 24 horas à 37°C, período após o qual, foi realizada a calibragem do inóculo ao grau 4 de McFarland. Realizados os procedimentos de calibragem dos inóculos, ambos foram misturados em Erlenmeyers e agitados.

Os espécimes tiveram então seus canais radiculares preenchidos com este inóculo e mantidos em estufa de aerobiose a 37° C durante 28 dias, com renovação do meio de cultura a cada 2 dias. Semanalmente, dois espécimes eram escolhidos aleatoriamente e amostras do TSB contaminado eram semeados em placas de Petri contendo ágar de soja tripticase (TSA). Após 24 horas de incubação em estufa de aerobiose à 37°C, as colônias observadas eram diferenciadas morfológicamente, e esfregaços de cada uma eram feitas e coradas por meio de coloração de Gram. A identificação dos MOs se dava mediante as características morfológicas das células visualizadas.

4.3 PREPARO QUÍMICO-CIRÚRGICO DOS ESPÉCIMES

No que concerne ao PQC, nos dentes dos grupos 1 à 4, o preparo dos orifícios de entrada dos canais radiculares foi realizado com o emprego de brocas de Gates-glidden números 3 (Dentsply Maillefer, Baillagues, Suíça), até uma profundidade compatível ao comprimento da ponta ativa do instrumento. O CRT foi estabelecido em 14,0mm, medida na qual foi realizado o PQC seriado com instrumentos tipo K de número 25 até o de número 50, com movimentos de limagem, sempre na presença da substância química correspondente (soro fisiológico, NaClO 1,0%, ou NaClO 5,25%).

Os dentes dos grupos 5 ao 8 foram preparados, até instrumentos com diâmetro final de 0,50mm (F5), também na presença da substância química correspondente, na seguinte sequência: S1 com movimentos de pincelamento contra todas as paredes dos canais, até o comprimento de 11,0mm; S2, com a mesma cinemática de instrumentação, até o CRT; F1, F2, F3, F4 e F5, com movimentos de vai-e-vem, até o CRT. Para evitar o contato direto com os espécimes, estes foram apreendidos com auxílio de uma pinça Perri esterilizada.

Os canais dos grupos 1, 2, 4, 5, 6, e 8 foram irrigados com 2,0mL da respectiva substância química, imediatamente após cada instrumento utilizado e, ao término do preparo, uma irrigação final com 10,0ml das mesmas substâncias foi realizada. Já nos grupos 3 e 7, utilizou-se 1,0ml de AC a 15% seguido de 1,0ml de NaClO a 1,0% depois de cada novo instrumento e, 5,0ml de cada uma destas substâncias após a finalização do PQC. Antes da utilização de cada instrumento ou broca, o conteúdo do canal radicular era aspirado e novamente preenchido por hipoclorito de sódio na concentração respectiva ao seu grupo, 1,0% ou 5,25%. Desta forma, cada canal radicular recebeu irrigação com 22,0ml de substâncias químicas. Para manter a padronização da velocidade de irrigação, foi utilizado motor elétrico e agulha de irrigação com diâmetro de 30G (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, Estados Unidos da América) num fluxo constante de 5ml/min. Ao término do preparo, o NaClO foi neutralizado com 2,0ml de solução esterilizada de tiosulfato de sódio a 5%, o qual foi mantido no interior do canal por 3 minutos.

4.4 COLETAS MICROBIOLÓGICAS

Antes do preparo do canal radicular e após a irrigação final com tiosulfato de sódio 5% (S1 e S2, respectivamente), os canais radiculares foram preenchidos com água peptonada esterilizada e amostras do conteúdo de cada dente foram coletadas com auxílio de três cones de papel esterilizados número 20, os quais foram levados até o CRT e mantidos por 1 minuto cada. Os cones de papel foram então colocados em tubos de microcentrífuga contendo 1,0mL de água peptonada esterilizada e levemente agitados em vortex, no intuito de desprender os microrganismos aderidos aos cones. Após a diluição serial (tabela 4.1), alíquotas foram semeadas de maneira a formar três postos distintos de 20µL em placas de Petri contendo ágar M-enterococcus (Difco Labs, Sparks, Estados Unidos) - para *E. faecalis* - e Sabouraud Dextrose (Difco Labs, Sparks, Estados Unidos) - para *C. albicans* -, as quais foram encubadas a 37° C durante 48 horas.

O próximo procedimento foi a clivagem dos espécimes em terços (cervical, médio e apical), o qual foi realizado com auxílio de um cinzel com duplo bixel e martelo cirúrgico estéreis. A ponta ativa do cinzel foi encaixada nos sulcos externos das raízes, realizados anteriormente e, com uma batida do martelo, o dente era dividido.

Em cada terço, raspas de dentina periférica ao canal radicular previamente preparado foram criadas (S3c, S3m e S3a) pelo desgaste com brocas tronco-cônicas diamantadas esterilizadas acopladas em contra-ângulo de baixa rotação, acionado por motor elétrico, o qual foi ajustado em 300 RPM, sem irrigação. Os terços foram apreendidos com uma pinça hemostática a fim de se evitar o contato direto com o operador. As raspas de dentina foram recolhidas em tubos de microcentrífuga contendo 1,0mL de solução de água peptonada estéril. A padronização das amostras foi realizada mediante pesagem dos tubos de microcentrífuga, antes e após a coleta, em balança digital de precisão, para cada terço, foram coletados 0,02g de dentina.

Após a homogeneização das amostras (S1, S2, S3c, S3m e S3a), diluições seriais foram realizadas, sendo os níveis de diluição dependentes do MO e da amostra a ser observada, como mostra a tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Diluições seriais das amostras, de acordo com o MO e coleta observada

MO	AMOSTRA	DILUIÇÕES
<i>Enterococcus faecalis</i>	S1	10^{-5} e 10^{-6}
	S2	10^{-1} e 10^{-2}
	S3c, S3m e S3a	10^{-1} e 10^{-2}
<i>Candida albicans</i>	S1	10^{-3} e 10^{-4}
	S2	10^0 e 10^{-1}
	S3c, S3m e S3a	10^0 e 10^{-1}

Para cada amostra e diluição realizadas, três poços de 20µL foram semeadas em placas de Petri contendo ágar M-enterococcus - para observação de *E. faecalis* - ou ágar Sabouraud dextrose - para o crescimento de *C. albicans* -, as quais permaneceram em estufa à 37° C por um período de 48 horas. Após este período, foi realizada a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC). Estes procedimentos foram todos realizados em triplicata, a fim de aumentar a confiabilidade das leituras.

4.5 CONTROLE DE ESTERILIDADE

Para impedir contaminação por outros micro-organismos, os espécimes foram sempre manipulados próximos à chama de bico de Bunsen, em câmara de fluxo laminar. O grupo de controle negativo foi composto por 5 dentes que permaneceram 4 semanas em tubos de ensaio contendo solução de TSB estéril. Ao término deste período, o conteúdo de seus canais foi coletado com auxílio de três cones de papel

esterilizados número 20, os quais foram levados por toda extensão do canal e mantidos por 1 minuto cada. Os cones de papel foram então colocados em tubos de ensaio contendo 1,0mL de água peptonada e submetidos a leve agitação em vortex, no intuito de desprender os micro-organismos aderidos aos cones. A semeadura deste grupo foi procedida como descrita anteriormente.

5 RESULTADOS

Os resultados obtidos das contagens de UFCs de *E. faecalis* e *C. albicans*, em cada coleta realizada – antes do PQC, após o PQC, raspas de dentina de cada terço -, para cada técnica de instrumentação e regime de irrigação, podem ser visualizados em apêndices A e B.

As médias dos valores obtidos foram reorganizados em tabelas estruturadas no intuito de facilitar a análise estatística e compreensão dos resultados. Ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, a grande maioria dos grupamentos analisados apresentou distribuição não normal, fazendo necessária a utilização de testes estatísticos não paramétricos.

5.1 REDUÇÃO DE UFCS DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* NA LUZ DOS CANAIS RADICULARES APÓS O PQC

Análises comparativas entre as diferentes técnicas de instrumentação e regimes de irrigação foram realizadas considerando-se a diminuição do valor total de UFCs de *E. faecalis* após a realização do PQC, em relação ao valor obtido das coletas realizadas anteriormente ao preparo dos canais. As comparações entre dois grupos foram realizadas por meio do teste não paramétrico de Mann-Whitney, com intervalo de confiança de 95%.

A análise realizada entre os valores iniciais e finais de UFCs na luz dos canais radiculares, demonstrou que todos os grupos estudados foram capazes de alcançar redução microbiana significativa.

A tabela 5.1 expressa as comparações entre os diferentes regimes de irrigação estudados nos grupos em que o PQC foi realizado pela técnica manual. O Grupo 1, cujos espécimes foram preparados mediante o uso de solução salina esterilizada, demonstrou valores de redução microbiana significativamente inferiores aos demais grupos ($p < 0,05$). Já o Grupo 4, apresentou 100% de redução em todos

Tabela 5.1 - Médias do percentual de redução de *Enterococcus faecalis* na luz dos canais radiculares imediatamente após o PQC

INSTRUMENTO	MÉDIAS			
	SORO FISIOLÓGICO	NaOCl 1%	NaOCl 1% + AC. CÍTRICO	NaOCl 5,25%
MANUAL	99,998369 ± 0,0000024	99,9999560 ± 0,0000417	99,9999600 ± 0,0000487	100,00
	_____ p = 0,0102* _____	_____ p = 0,5708 _____	_____ p = 0,0233* _____	
	_____ p = 0,0102* _____	_____ p = 0,0102* _____	_____ p = 0,0233* _____	
	_____ p = 0,0102* _____	_____ p = 0,0025* _____	_____ p = 0,0233* _____	
ROTATÓRIO	99,9983660 ± 0,0010241	99,9999200 ± 0,0001484	99,9999720 ± 0,0000333	100,00
	_____ p = 0,0082* _____	_____ p = 0,08501 _____	_____ p = 0,0588 _____	
	_____ p = 0,0102* _____	_____ p = 0,0102* _____	_____ p = 0,0233* _____	
	_____ p = 0,0102* _____	_____ p = 0,0025* _____	_____ p = 0,0233* _____	

* Ocorrência de diferença estatística ($\alpha = 0,05$)

os espécimes, superando os demais regimes de irrigação ($p < 0,05$). E os Grupos 2 e 3 não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si ($p = 0,5708$).

Resultados semelhantes são observados nos grupos preparados com instrumentos rotatórios, como demonstra ainda a tabela 5.1. Novamente o Grupo 5, apresentou resultados inferiores aos demais ($p < 0,05$). Mais uma vez, o grupo no qual foi utilizado hipoclorito de sódio a 5,25% reduziu em 100% as UFCs, produzindo resultados significativamente superiores ao hipoclorito de sódio a 1,0% ($p < 0,05$), porém sem diferença estatística quando da utilização de hipoclorito de sódio a 1,0% e AC a 15% ($p = 0,0588$). Ao comparar os Grupos 6 e 7, não foi observada diferença estatística significativa ($p = 0,8501$).

Quando o fator de variação avaliado foi o tipo de instrumento utilizado durante o PQC, mantendo constantes os regimes de irrigação, diferenças estatisticamente significativas não foram observadas ($p > 0,05$), bem como pode ser visualizado na tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Comparação das técnicas de instrumentação na redução de UFCs de *E. faecalis*

REGIME DE IRRIGAÇÃO	MÉDIA MANUAL	MÉDIA ROTATÓRIO	VALOR DE P
SOLUÇÃO FISIOLÓGICA	99,998369 $\pm$ 0,0000024	99,9983660 $\pm$ 0,0010241	0,7624
NaOCl 1,0%	99,9999560 $\pm$ 0,0000417	99,9999200 $\pm$ 0,0001484	0,7624
NaOCl 1,0% + AC 15%	99,9999600 $\pm$ 0,0000487	99,9999720 $\pm$ 0,0000333	0,6232
NaOCl 5,25%	100,00	100,00	1,0000

5.2. REDUÇÃO DE UFCS DE CÂNDIDA ALBICANS NA LUZ DOS CANAIS RADICULARES APÓS O PQC

A análise realizada entre os valores iniciais e finais de UFCs na luz dos canais radiculares, demonstrou que todos os grupos estudados foram capazes de alcançar redução microbiana significativa. Novamente o teste estatístico utilizado foi o Mann-

Whitney com intervalo de confiança de 95%. As médias dos resultados obtidos e os percentuais de redução microbiana podem ser observados em apêndices B.

A tabela 5.3 mostra as comparações entre os grupos cujos espécimes foram preparados por meio de instrumentos manuais. A grande quantidade de espécimes que apresentaram redução microbiana de 100% nos grupos instrumentos mediante o uso de hipoclorito de sódio a 1,0%, hipoclorito de sódio a 1,0% seguido de AC a 15% e hipoclorito de sódio a 5,25%, fez com que estes grupos, além de demonstrarem resultados significativamente superiores ao grupo preparado com solução fisiológica esterilizada ($p < 0,001$), não diferirem entre si ($p > 0,05$).

Já nas comparações entre os grupos preparados com instrumentos rotatórios, visualizadas na tabela 5.3, diferenças estatisticamente significativas foram observadas entre o grupo em que foi utilizado soro fisiológico e os demais, e entre o hipoclorito de sódio a 1,0% e 5,25%. A redução de UFCs nos espécimes irrigados com hipoclorito de sódio a 1,0% e seguido por AC à 15% não foi estatisticamente diferente à redução observada nos grupos 6 e 8.

Ao se avaliar a influência do tipo de instrumento utilizado no preparo do canal radicular na redução microbiana da luz do canal radicular, pode-se observar na tabela 5.4 a não ocorrência de diferenças estatísticas significativas entre os grupos, quando os agentes químicos utilizados na irrigação são os mesmos.

5.3. CONTAGEM DE UFCs DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* PRESENTES NA DENTINA CIRCUNJACENTE À CAVIDADE PULPAR APÓS O PQC

Os resultados da contagem de UFCs de *Enterococcus faecalis*, das raspas de dentina obtidas ao término do PQC realizado por instrumentos manuais e rotatórios podem ser visualizados em apêndices. A tabela 5.5 demonstra as comparações entre os resultados, obtidos nos diferentes terços do canal radicular, da contagem de UFCs das raspas de dentina produzidas imediatamente após o PQC com instrumentos manuais, pelos diferentes regimes de irrigação avaliados.

Tabela 5.3 - Médias do percentual de redução de *Candida albicans* na luz dos canais radiculares imediatamente após o PQC

INSTRUMENTO	MÉDIAS			
	SORO FISIOLÓGICO	NaOCl 1%	NaOCl 1% + AC. CÍTRICO	NaOCl 5,25%
MANUAL	98,974 ± 0,206	99,874 ± 0,137	99,936 ± 0,081	100,00
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,04057 _____	_____ p = 0,588 _____	
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0588 _____	
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____	
ROTATÓRIO	98,721 ± 0,719	99,888 ± 0,107	99,949 ± 0,059	99,996 ± 0,008
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,2265 _____	_____ p = 0,1306 _____	
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0494* _____	
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____	

* Ocorrência de diferença estatística (α = 0,05)

Tabela 5.4 - Comparação das técnicas de instrumentação na redução de UFCs de *C. albicans*

REGIME DE IRRIGAÇÃO	MÉDIA MANUAL	MÉDIA ROTATÓRIO	VALOR DE P
SOLUÇÃO FISIOLÓGICA	98,974 ± 0,206	98,721 ± 0,719	0,5967
NaOCl 1,0%	99,874 ± 0,137	99,888 ± 0,107	0,7913
NaOCl 1,0% + AC 15%	99,936 ± 0,081	99,949 ± 0,059	0,8501
NaOCL 5,25%	100,00	99,996 ± 0,008	0,4497

Independente do terço avaliado, pode-se observar que os grupos irrigados apenas com solução fisiológica esterilizada produziram contagens de MOs viáveis estatisticamente superiores aos demais grupos.

No terço cervical, o grupo do hipoclorito de sódio a 5,25% sobressaiu-se com relação ao grupo no qual foi utilizado a substância em concentração de 1,0% ($p < 0,001$). Já quando foi utilizado o hipoclorito de sódio a 1,0% seguido pelo AC a 15%, não foram constatadas diferenças estatísticas significativas com relação aos grupos 2 e 3.

Ao avaliar as raspas de dentina produzidas no terço médio, o grupo irrigado somente com hipoclorito de sódio a 1,0% obteve os piores resultados, com diferença estatística significativa tanto para o Grupo 3 quanto para o Grupo 4 ($p < 0,05$ e $p < 0,001$, respectivamente). A utilização de AC a 15% apo o hipoclorito de sódio a 1,0%, quando comparado com o hipoclorito de sódio a 5,25%, não apresentou diferença significativa ($p = 0,1859$).

Já no terço apical, os resultados das comparações são similares às análises obtidas no terço médio. Assim, o hipoclorito de sódio a 1,0% produziu resultados inferiores á associação de substâncias e á sua concentração mais elevada ($p < 0,05$ e $p < 0,001$, respectivamente), não ocorrendo diferença estatística significativa entre estes grupos ($p = 0,7055$).

A tabela 5.6 mostra as comparações entre os grupos, levando-se em conta o regime de irrigação utilizado, após o PQC mediante o emprego de instrumentos rotatórios.

Tabela 5.5 - Médias de UFC/ μ L (log) de *E. faecalis* nas raspas de dentina (S3) quando do emprego de instrumentos manuais

TERÇO RADICULAR	MÉDIAS			
	SORO FISIOLÓGICO	NaOCl 1%	NaOCl 1% + AC. CÍTRICO	NaOCl 5,25%
TERÇO CERVICAL	2223,33 $\pm$ 1247,94	156,67 $\pm$ 110,33	90,00 $\pm$ 111,44	11,67 $\pm$ 22,30
	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0727	_____ p = 0,1859	
	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0010*	
	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0010*	
TERÇO MEDIO	1811,63 $\pm$ 744,87	170,00 $\pm$ 128,33	48,33 $\pm$ 58,50	6,67 $\pm$ 11,65
	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0211*	_____ p = 0,1041	
	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0010*	
	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0010*	
TERÇO APICAL	1271,67 $\pm$ 418,26	51,67 $\pm$ 46011	13,33 $\pm$ 42,16	0,00 $\pm$ 0,00
	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0452*	_____ p = 0,7055	
	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0082*	
	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0002*	_____ p = 0,0002*	

* Ocorrência de diferença estatística ($\alpha = 0,05$)

Em todos os terços avaliados, os grupos irrigados com hipoclorito de sódio a 1,0% somente ou seguido por AC a 15%, ou em sua concentração de 5,25%, produziram contagens de MOs viáveis inferiores aos observados no grupo irrigado com solução fisiológica.

Ao avaliar o terço cervical, observa-se que o hipoclorito de sódio a 5,25% foi mais eficaz em promover a desinfecção da dentina do que o hipoclorito de sódio a 1,0% apenas ($p < 0,05$), contudo, seus resultados não diferiram significativamente do número de UFCs contados no grupo irrigado por hipoclorito de sódio a 1,0% seguido por AC ($p = 0,1988$). Da mesma forma, os resultados deste último não foram diferentes estatisticamente aos resultados do grupo 6 ($p = 0,0588$).

Nos terços médio e apical, o hipoclorito de sódio a 1,0% demonstrou os piores resultados de desinfecção da dentina, com número de UFCs significativamente maiores do que os grupos 7 e 8 ($p < 0,05$), os quais não apresentaram diferença estatística entre si ($p = 0,3643$ no terço médio, e $p = 0,1306$ no terço apical).

Com relação aos instrumentos utilizados, a análise estatística não apontou diferença significativa entre os grupos preparados com instrumentos manuais e rotatórios, como pode ser observado na tabela 5.7.

5.4. CONTAGEM DE UFCS DE *CANDIDA ALBICANS* PRESENTES NA DENTINA CIRCUNJACENTE À CAVIDADE PULPAR APÓS O PQC

Os valores da contagem de UFCs de *C. albicans* presentes nas paredes dentinárias dos canais radiculares, em seus diferentes terços, podem ser apreciados em apêndices.

Na tabela 5.8 pode-se observar as comparações entre os grupos preparados com auxílio de instrumentos manuais, considerando as soluções químicas utilizadas como fatores de variação.

Tabela 5.6 - Médias de UFC/ μ L (log) de *E. faecalis* nas raspas de dentina (S3) quando do emprego de instrumentos rotatórios

TERÇO RADICULAR	MÉDIAS			
	SORO FISIOLÓGICO	NaOCI 1%	NaOCI 1% + ÁC. CÍTRICO	NaOCI 5,25%
TERÇO CERVICAL	2538,33 $\pm$ 1342,70	241,67 $\pm$ 227,34	63,33 $\pm$ 85,27	11,83 $\pm$ 22,34
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0588 _____	_____ p = 0,1988 _____	
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0073* _____		
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____		
TERÇO MEDIO	2245,00 $\pm$ 1216,73	263,33 $\pm$ 206,50	31,67 $\pm$ 44,06	10,00 $\pm$ 14,05
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0036* _____	_____ p = 0,3643 _____	
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0012* _____		
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____		
TERÇO APICAL	1591,67 $\pm$ 648,23	188,33 $\pm$ 112,28	11,67 $\pm$ 17,65	0,00 $\pm$ 0,00
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0159* _____	_____ p = 0,1306 _____	
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____		
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____		

* Ocorrência de diferença estatística ($\alpha = 0,05$)

Tabela 5.7 - Comparação das técnicas de instrumentação nas contagens de UFC/ml de *E. faecalis* nas diferentes porções do canal radicular

PORÇÃO DO CANAL	REGIME DE IRRIGAÇÃO	MÉDIA MANUAL	MÉDIA ROTATÓRIO	VALOR DE P
TERÇO CERVICAL	SOLUÇÃO FISIOLÓGICA	2223,33 ± 1247,94	2538,33 ± 1342,70	0,4727
	NaOCl 1,0%	156,67 ± 110,33	241,67 ± 227,34	0,4497
	NaOCl 1,0% + AC 15%	90,00 ± 111,44	63,33 ± 85,27	0,9397
	NaOCl 5,25%	11,67 ± 22,30	11,83 ± 22,34	0,9699
TERÇO MÉDIO	SOLUÇÃO FISIOLÓGICA	1811,63 ± 744,87	2245,00 ± 1216,73	0,4963
	NaOCl 1,0%	170,00 ± 128,33	263,33 ± 206,50	0,3075
	NaOCl 1,0% + AC 15%	48,33 ± 58,50	31,67 ± 44,06	0,5454
	NaOCl 5,25%	6,67 ± 11,65	10,00 ± 14,05	0,6501
TERÇO APICAL	SOLUÇÃO FISIOLÓGICA	1271,67 ± 418,26	1591,67 ± 648,23	0,2568
	NaOCl 1,0%	51,67 ± 46,11	188,33 ± 112,28	0,4727
	NaOCl 1,0% + AC 15%	13,33 ± 42,16	11,67 ± 17,65	0,3258
	NaOCl 5,25%	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,0000

Nos três terços, o soro fisiológico demonstrou contagem de UFCs superiores aos valores obtidos nos demais grupos ($p < 0,001$).

Nos terços cervical e médio, a irrigação com hipoclorito de sódio a 1,0% foi significativamente menos eficaz do que os regimes nos quais foram utilizados a associação de substâncias e concentrações mais elevadas de hipoclorito ($p < 0,05$), não sendo observada diferença estatística entre estes grupos em ambos os terços ($p = 0,1736$ e $p = 0,2899$, nos terços cervical e médio, respectivamente).

Já no terço apical a análise estatística confirmou a hipótese de nulidade, não demonstrando diferença estatística entre os grupos 2, 3 e 4.

Quando da utilização de instrumentos rotatórios para o preparo dos canais radiculares, as comparações entre os regimes de irrigação empregados podem ser observadas na tabela 5.9. Independente do terço, o soro fisiológico demonstrou os maiores valores de UFCs ($p < 0,001$).

No terço cervical, os melhores resultados podem ser observados nos grupos irrigados com hipoclorito de sódio a 5,25%, o qual resultou em menores números de

Tabela 5.8 - Médias de UFC/ μ L (log) de *Candida albicans* nas raspas de dentina (S3) quando do emprego de instrumentos manuais

PORÇÃO DO CANAL	MÉDIAS			
	SORO FISIOLÓGICO	NaOCl 1%	NaOCl 1% + ÁC. CÍTRICO	NaOCl 5,25%
TERÇO CERVICAL	595,00 $\pm$ 132,65	103,34 $\pm$ 80,43	25,00 $\pm$ 25,15	10,00 $\pm$ 14,05
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0126* _____	_____ p = 0,1736 _____	
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0032* _____		
TERÇO MEDIO	571,67 $\pm$ 220,56	91,67 $\pm$ 80,60	16,67 $\pm$ 19,24	6,67 $\pm$ 11,65
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0412* _____	_____ p = 0,2899 _____	
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0211* _____		
TERÇO APICAL	200,00 $\pm$ 156,35	40,00 $\pm$ 53,98	10,00 $\pm$ 17,92	0,00 $\pm$ 0,00
	_____ p = 0,0284* _____	_____ p = 0,2730 _____	_____ p = 0,2568 _____	
	_____ p = 0,0091* _____	_____ p = 0,0588 _____	_____ p = 0,0025* _____	

* Ocr.rência de diferença estatística ($\alpha = 0,05$)

UFCs do que o hipoclorito de sódio a 1,0% ($p < 0,001$) e hipoclorito de sódio a 1,0% seguido de AC a 15% ($p < 0,05$).

Ao analisar os resultados colhidos das raspas de dentina do terço médio, pôde-se observar que os piores resultados foram expressos nos espécimes irrigados apenas com hipoclorito de sódio a 1,0% ($p < 0,001$). Já os grupos nos quais o regime de irrigação empregava o hipoclorito de sódio a 1,0% seguido pelo AC e hipoclorito de sódio a 5,25%, não foi observada diferença estatística significativa ($p = 0,2730$).

Já no terço apical, o hipoclorito de sódio a 5,25% apresentou valores de UFCs significativamente menores do que quando era utilizado apenas em sua concentração de 1,0% ($p < 0,05$). Quando da utilização de hipoclorito de sódio a 1,0% seguido de AC a 15%, os resultados não diferiram quanto ao grupo irrigado apenas com hipoclorito de sódio a 1,0% ($p = 0,3258$), e tampouco quanto o hipoclorito de sódio a 5,25% foi utilizado ($p = 0,1306$).

Os resultados das comparações entre grupos, do número de UFCs, quando os fatores de variação analisados foram os instrumentos empregados no preparo do canal radicular, podem ser visualizados na tabela 5.10. Nota-se a não ocorrência de diferenças estatísticas entre os grupos irrigados pelos mesmos regimes de substâncias, independente do terço analisado ($p > 0,05$).

Tabela 5.9 - Médias de UFC/ μ L (log) de *Candida albicans* nas rasas de dentina (S3) quando do emprego de instrumentos rotatórios

TERÇO RADICULAR	MÉDIAS			
	SORO FISIOLÓGICO	NaOCI 1%	NaOCI 1% + AC. CÍTRICO	NaOCI 5,25%
TERÇO CERVICAL	536,67 $\pm$ 114,61	140,00 $\pm$ 79,43	25,00 $\pm$ 26,35	5,00 $\pm$ 8,05
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0022* _____	_____ p = 0,0494* _____
	_____	_____ p = 0,0002* _____	_____	_____
TERÇO MEDIO	525,00 $\pm$ 116,07	100,00 $\pm$ 46,48	18,33 $\pm$ 24,15	5,00 $\pm$ 8,05
	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0012* _____	_____ p = 0,2730 _____	_____
	_____	_____ p = 0,0002* _____	_____ p = 0,0002* _____	_____
TERÇO APICAL	171,67 $\pm$ 92,65	43,33 $\pm$ 60,96	10,00 $\pm$ 14,05	0,00 $\pm$ 0,00
	_____ p = 0,0022* _____	_____ p = 0,3258 _____	_____ p = 0,1306 _____	_____
	_____	_____ p = 0,0005* _____	_____ p = 0,0233* _____	_____
	_____	_____ p = 0,0002* _____	_____	_____

Tabela 5.10 - Comparação das técnicas de instrumentação nas contagens de UFC/ml de *C. albicans* nas diferentes porções do canal radicular

PORÇÃO DO CÂNAL	REGIME DE IRRIGAÇÃO	MÉDIA MANUAL	MÉDIA ROTATÓRIO	VALOR DE P
TERÇO CERVICAL	SOLUÇÃO FISIOLÓGICA	595,00 ± 132,65	536,67 ± 114,61	0,4963
	NaOCl 1,0%	103,34 ± 80,43	140,00 ± 79,43	0,1988
	NaOCl 1,0% + AC 15%	25,00 ± 25,15	25,00 ± 26,35	1,0000
	NaOCl 5,25%	10,00 ± 14,05	5,00 ± 8,05	0,5454
TERÇO MÉDIO	SOLUÇÃO FISIOLÓGICA	571,67 ± 220,56	525,00 ± 116,07	0,4274
	NaOCl 1,0%	91,67 ± 80,60	100,00 ± 46,48	0,7337
	NaOCl 1,0% + AC 15%	16,67 ± 19,24	18,33 ± 24,15	0,9699
	NaOCl 5,25%	6,67 ± 11,65	5,00 ± 8,05	0,9097
TERÇO APICAL	SOLUÇÃO FISIOLÓGICA	200 ± 156,35	171,67 ± 92,65	0,5967
	NaOCl 1,0%	40,00 ± 53,98	43,33 ± 60,96	0,9397
	NaOCl 1,0% + AC 15%	10,00 ± 17,92	10,00 ± 14,05	0,8206
	NaOCl 5,25%	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,0000

6 DISCUSSÃO

6.1 DA ESCOLHA DO TEMA

O tratamento do canal radicular é uma terapia cujo sucesso pode alcançar índices entre 82% a 96% em casos nos quais a vitalidade pulpar é observada durante ao tratamento (De Chevigny et al., 2008), entretanto, este índice decresce para uma faixa entre 76% a 80% quando há evidências da presença de MOs no sistema de canais radiculares (Marquis et al., 2006). Isto evidencia a influência destes agentes no resultado da terapia endodôntica. MOs patogênicos e seus subprodutos induzem alterações inflamatórias nos tecidos pulpare e periapicais (Takehashi et al, 1965), apresentando efeitos biológicos na indução e manutenção destas alterações.

Assim, fica clara a necessidade em se neutralizar a maior quantidade possível destes organismos, seus subprodutos e tecido orgânico necrótico do interior do canal radicular no intuito de propiciar condições favoráveis à reparação tecidual e cura do processo patogênico pelo organismo do hospedeiro (Estrela, 2004). É durante a etapa de preparo do canal radicular, coadjuvada posteriormente pela utilização de medições intracanal, que estes objetivos são almejados pela ação conjunta de instrumentos endodônticos e agentes químicos (Schilder, 1974).

O preparo químico-cirúrgico, como a própria denominação salienta, constitui-se de procedimento cirúrgico e não apenas mecânico, haja vista que há na sua execução a exérese parcial do tecido pulpar e dentina que compõe a parede do canal radicular. Para este fim, instrumentos endodônticos de uso manual ou acionados a motores são utilizados de maneira a modelar o espaço endodôntico conferindo-lhe um formato cônico com maior diâmetro cervical o qual decresce gradualmente em sentido apical (Schilder, 1974).

Das substâncias químicas utilizadas neste processo de limpeza e desinfecção, destacam-se os agentes com ação antimicrobiana como o hipoclorito de sódio cuja eficácia contra patógenos endodônticos foi amplamente estudada e comprovada (Siqueira et al., 2007; Tirali et al., 2009; Câmara et al., 2009; Chandra et

al., 2010; Retamozo et al., 2010). Além destas substâncias bactericidas, destacam-se também compostos cuja função primordial é a promoção da limpeza das paredes de dentina do canal radicular por meio da ação quelante ou desmineralizante de suas moléculas.

6.2 DA METODOLOGIA

As infecções do espaço endodôntico são, em sua maioria, polimicrobianas constituídas basicamente por bactérias e fungos. As condições ambientais encontradas no interior do canal radicular e dentina circunjacente levam à predominância de MOs anaeróbios estritos ou facultativos.

Dentre estes MOs, o *Enterococcus faecalis* possui grande importância por ser observado de forma recorrente em diversos estudos da microbiota de doenças endodônticas e cuja incidência em casos de insucesso vem sendo estudada amplamente. O fato de possuir fatores de virulência que o permitem colonizar o canal radicular em seu lúmen e na intimidade dos túbulos dentinários que o permeiam o tornam o MO de escolha para ensaios que visam estudar o processo de infecção e posterior descontaminação da dentina circunjacente ao espaço endodôntico.

Haapasalo e Ørstavik (1987) estudaram a capacidade deste MO em colonizar a dentina das paredes do canal radicular na intimidade de seus túbulos dentinários. Puderam observar que após um período de 21 dias, o *E. faecalis* penetrou uma distância de até 1000 µm nos túbulos dentinários. Não há dúvidas que este fator o torna um MO extremamente difícil de ser eliminado do espaço endodôntico, visto que medicações antimicrobianas comumente utilizadas em endodontia, como a clorexidina, atuam eficazmente somente com o contato direto com o MO.

Além de adentrar nas paredes do canal radicular, a proteína de ligação ao colágeno (Ace), constituinte de sua parede celular, fortalece sua ligação com a dentina (Kayaoglu et al., 2008). Soma-se isto ao fato deste MO possuir a capacidade de formar biofilme no interior do canal radicular e fica clara a dificuldade de sua remoção durante a terapia (George et al., 2005; Kishen et al., 2006; Liu et al., 2010).

Outro microrganismo utilizado neste estudo, a *Candida albicans* é um fungo comumente observado em infecções endodônticas primárias (Debelian et al., 1997; Baumgartner et al., 2000; Lana et al., 2001; Egan et al., 2002; Siqueira et al., 2002b; Siqueira et al., 2002c) e que tem sido amplamente estudado devido a sua alta prevalência em casos de lesões persistentes à terapia (Nair et al., 1990; Waltimo et al., 1997; Molander et al., 1998; Sundqvist et al., 1998; Cheung; Ho, 2001; Hancock et al., 2001; Peciulienė et al., 2001; Pinheiro et al., 2003; Siqueira; Rôças, 2004).

Este microrganismo possui diversos mecanismos similares aos do *E. faecalis*, como a capacidade de penetrar em túbulos dentinários, adesão à dentina (Sen et al., 1995) e formação de biofilme (Turk et al., 2008). Por se tratar de um fungo dimórfico, adapta-se facilmente a variações do meio em que se encontra, podendo mutar de seu aspecto de hifas para leveduras ou o inverso se necessário (Siqueira; Sen, 2004).

A *C. albicans* pode se coagregar com diversos patógenos endodôntico (Ferrari et al., 2005), entretanto, Jenkinson et al.¹ (1990, apud Siqueira; Sen, 2004) demonstraram que este fungo não se agrega com o *E. faecalis*. Além disso, Ozawa et al. (1979) observaram que em culturas mistas estes dois microrganismos eram antagônicos, ocorrendo o crescimento apenas da bactéria em detrimento do fungo. No presente trabalho, e em diversos outros que utilizaram culturas mistas de *E. faecalis* e *C. albicans* (Cardoso, 2006; Delgado, 2007; Aguiar, 2009), ambos os microrganismos mantiveram-se viáveis durante todo o período de cultura. Isto pode ser explicado pelo fato de terem sido utilizados fungos recém coletados de hospedeiros humanos, ao passo que no trabalho de Ozawa et al. (1979) os autores utilizaram cepas ATCC as quais podem ter sofrido inibição de alguns de seus mecanismos de virulência devido ao tempo ou condições de armazenagem.

O período de cultura de 28 dias utilizado com trocas de meio de cultura a cada 2 dias é condizente com outros trabalhos que utilizaram também o *E. faecalis*. Rollison et al. (2002) e Singla et al. (2010) realizaram períodos menores de cultura, contudo, cabe citar novamente o trabalho de Haapasalo e Ørstavik (1987), no qual pôde-se observar a penetração em profundidades de 1000 µm apenas após 21 dias de incubação. Como o intuito deste trabalho foi avaliar a descontaminação da luz do canal radicular e da dentina circunjacente, é lógico utilizar períodos que proporcionem maiores chances de contaminação profunda da dentina.

1. Jenkinson HF, Lala HC, Shepherd MG. Coaggregation of *Streptococcus sanguis* and other streptococci with *Candida albicans*. *Infect Immun*. 1990 May;58(5):1429-36.

A metodologia de preparo dos espécimes foi avaliada em pesquisa prévia ainda não publicada. Optou-se pelo banho ultrassônico de apenas 3 minutos com EDTA-T a 17%, hipoclorito de sódio a 5,25% e água destilada, o que contraria as propostas de Vivacqua-Gomes et al. (2005), os quais propuseram períodos de 10 minutos de exposição às mesmas substâncias em cuba ultrassônica. No estudo preliminar pode-se notar a grande modificação da dentina quando tempos superiores a 5 minutos eram utilizados, além disso, a remoção do cimento radicular exacerbava estas alterações, motivo pelo qual escolheu-se pela manutenção do cimento no presente estudo, diferenciando-o das propostas de Haapasalo e Ørstavik (1987) e Vivacqua-Gomes et al. (2005).

Discute-se aqui a real necessidade em se aumentar de forma vertiginosa a permeabilidade dentinária dos espécimes em detrimento às suas características morfológicas originais. Neste estudo, pode-se observar que a contagem de UFCs após a primeira coleta foi semelhante aos resultados obtidos em trabalhos que utilizaram as metodologias de preparo de espécimes dentários previamente citadas. Contudo, mais pesquisas fazem-se necessárias para melhor elucidar este tema e responder a questionamentos inerentes às modificações sofridas pelos espécimes, e à hipótese de que o aumento exacerbado da permeabilidade dentinária e remoção do cimento radicular possa maximizar a infiltração bacteriana nos túbulos dentinários sem, contudo, influenciar na remoção destes MOs durante o PQC.

Estudos da anatomia de pré-molares inferiores observaram que o diâmetro médio do canal radicular na região da junção CDC é de 0,32 mm (Hassanien et al., 2008). Desta forma, optou-se por padronizar todos os espécimes utilizando um instrumento endodôntico tipo K número 30 até que sua ponta pudesse ser visualizada justaposta ao forame apical.

Rollison et al. (2002) e Mickel et al. (2007) demonstraram que o alargamento da região apical diminui significativamente a contagem de UFCs após o PQC. Falk e Sedgley (2005) demonstraram que a eficácia da irrigação é aumentada quando se amplia o diâmetro apical dos canais radiculares durante seu preparo. Assim, no presente estudo, o preparo dos canais radiculares, independente do regime de irrigação e instrumentos utilizados, procedeu-se com instrumentos com diâmetro apical igual 0,50 mm a um milímetro aquém do forame apical.

A metodologia de coletas microbianas utilizada é confiável e reproduzível, tendo sido utilizada previamente em diversos trabalhos (Berber et al., 2006; Mickel et al., 2007). A utilização de pinça hemostática para apreender cada espécime facilitou sua manipulação sem que houvesse contato direto com o operador, diminuindo assim o risco de contaminação por outros MOs, e contornando a necessidade de fabricação de um dispositivo específico para este fim. A realização de sulcos de orientação transversais nas raízes previamente à esterilização dos espécimes foi medida providencial ao sucesso do ensaio, por favorecer a clivagem dos espécimes em terços e, assim, evitar a contaminação por outros MOs.

A utilização de pontas de papel absorvente leva a vantagem de ser facilmente aplicada em experimentos *in vitro* e *in vivo* contudo, limita-se a área de estudo apenas à luz do canal principal. No intuito de preencher esta lacuna, a utilização de raspas de dentina permitiu a verificação de grande parte do sistema de canais radiculares que compunham o endodonto dos dentes analisados.

Para facilitar a contagem de UFCs de cada MO utilizado, foram usadas placas de Petri com ágar mEnterococcus e Sabouraud Dextrose, os quais são meios seletivos para *E. faecalis* e *C. albicans*, respectivamente. Para diminuir a margem de erro, todos os procedimentos foram realizados em triplicatas.

6.3 DOS RESULTADOS

6.3.1 Influência da técnica de instrumentação

Pôde-se observar que, independente da coleta analisada (S2, S3c, S3m ou S3a) ou do regime de irrigação empregado, não houve diferenças estatísticas entre as duas técnicas de instrumentação avaliadas. Estes resultados estão de acordo com os dados obtidos por diversos outros autores (Dalton et al., 1998; De Rossi et al., 2005; Chuste-Guillot et al., 2006). Segundo Berber et al. (2006), as quantidades de dentina removidas durante a instrumentação manual ou mecanizada não diferem

entre si. Isto pode explicar parcialmente a ausência de diferenças na contagem de UFCs no presente estudo.

Outro fator que poderia influenciar na desinfecção dos canais radiculares instrumentados é o tempo decorrido para o PQC de cada canal, haja vista que tempos maiores de exposição ao agente antimicrobiano resultariam em uma ação mais eficaz de desinfecção (Retamozo et al., 2010). Desta forma, optou-se por padronizar o tempo de instrumentação para 10 minutos para todos os espécimes e ambas as técnicas.

A formação de magma dentinário durante o PQC poderia também influenciar nos resultados. Sabe-se que instrumentos rotatórios tendem a produzir preparos mais regulares e com maior limpeza do que os preparos realizados com instrumentos endodônticos manuais. Entretanto, este fato não foi suficiente para gerar diferenças estatisticamente significativas entre as duas técnicas.

6.3.2 Influência dos regimes de irrigação

O hipoclorito de sódio é vastamente utilizado em todo o mundo dada à elevada capacidade de neutralizar uma grande variedade de MOs. Discute-se entretanto qual é a concentração ideal para utilizá-la em endodontia. Encontram-se na literatura atual relatos de utilização em endodontia de concentrações que variam de 0,5% a 6,15% (Mohammadi, 2008). É evidente que maiores concentrações da solução proporcionam maior eficácia bactericida, contudo, o tempo necessário para alcançar a eliminação total de MOs patogênicos da polpa dentária ainda é muito discutido, podendo variar de 30s a 72 h, dependendo da concentração (Tirali et al., 2009).

No presente estudo, 10 minutos foi o tempo necessário para se eliminar tanto o *E. faecalis* quanto a *C. albicans* da luz do canal radicular utilizando hipoclorito de sódio a uma concentração de 5,25%, independente da técnica de instrumentação utilizada. Este dados estão de acordo com trabalhos de (Berber et al., 2006; Siqueira et al., 2007a). A exérese de dentina circunjacente ao espaço endodôntico pode ser suficiente para a remoção de MOs aderidos à parede do canal radicular. Mesmo nos

grupos preparados com solução salina, a diminuição da taxa de MOs foi proeminente, sendo observados inclusive espécimes nos quais não se foi capaz de recuperar MOs viáveis durante as coletas de dentina, o que condiz com trabalhos de Falk e Sedgley, 2005.

Os dois MOs analisados são suscetíveis ao hipoclorito de sódio nas duas concentrações utilizadas. Tiralli et al. (2009) demonstraram que a culturas de *C. albicans* levam um tempo significativamente menor para serem neutralizadas quando comparadas a culturas de *E. faecalis*.

Dos regimes de irrigação testados, o hipoclorito de sódio a 1,0% obteve resultados melhores apenas do que a solução fisiológica, tanto na eliminação de *E. faecalis*, quanto de *C. albicans*. Não há dúvidas de que a baixa concentração e a ausência de associação com outra substância influenciou negativamente nestes resultados. Ressalta-se a importância de utilização de substâncias que potencializem a capacidade bactericida e de limpeza do hipoclorito de sódio quando opta-se por seu uso em concentrações baixas como a 0,5% ou 1,0% (Paiva; Antoniazzi, 1988).

Na concentração de 5,25%, o hipoclorito de sódio obteve os melhores resultados, gerando culturas negativas de ambos MOs em grande número das placas analisadas, tanto no lúmen do canal radicular quando no interior de suas paredes. . A atividade bactericida desta substância pode ser explicada por sua dissociação em ácido hipocloroso e hidróxido de sódio, o primeiro agente é um potente oxidante, o qual reage com os aminoácidos da parede celular dos MOs, ocorrendo assim uma reação de cloraminação que interfere com o metabolismo celular. Quanto maior a concentração do sal de hipoclorito em solução aquosa, maior a quantidade por mL de ácido hipocloroso e, conseqüentemente, maior o seu poder bactericida.

Os grupos nos quais foi utilizada a associação de hipoclorito de sódio a 1,0% e AC a 15% geraram contagens de UFCs inferiores aos grupos instrumentados com hipoclorito de sódio a 1,0% apenas, e superiores aos dos grupos nos quais a concentração do sal era de 5,25%. O AC de fato possui eficácia antimicrobiana contra MOs anaeróbios estritos e facultativos (Siqueira et al., 2002d; Smith; Wayman, 1986; Krause et al., 2007; Arias-Moliz et al., 2008). Nikolaus et al. (1988) demonstraram que este poder bactericida chega ser similar à capacidade do

hipoclorito de sódio a 5,25%, quando se é utilizado o ácido em concentração igual ou superior a 50%. Contudo, esta ação em promover a morte bacteriana é observada apenas em culturas de células em suas formas planctônicas. Georgopoulou et al. (1994) observaram que o AC é ineficaz na redução microbiana quantos os MOs encontram-se em biofilme. O período utilizado neste estudo (21 dias) é suficiente para a formação de biofilme por ambos os MOs (George et al., 2005; Kishen et al., 2006; Liu et al., 2010; Sen et al., 1995), desta forma, é pouco provável que a redução bacteriana observada nos grupos nos quais foram utilizados hipoclorito de sódio a 1,0% e AC 15% tenha ocorrido pela eficácia bactericida do ácido.

Diversos autores demonstraram a ação desmineralizante do AC em diversas concentrações (Akisue; Gavini, 2000; Eldeniz et al., 2005; De Deus et al. 2006a, 2006b; Pérez-Heredia et al., 2006). Gavini et al. (1994) observara que este ácido em concentração de 15% aumenta significativamente a limpeza do canal radicular após o PQC e, conseqüentemente, torna a dentina mais permeável. Loel (1975) preconizou o uso da associação de hipoclorito de sódio a 5% e AC a 50% no preparo de canais radiculares. O canal radicular era preenchido inicialmente com AC a 50%, o qual era mantido pelo período de 2 minutos após o qual era substituído por hipoclorito de sódio a 5,0%. O autor afirmou que esta associação resultava em paredes dentinária mais limpas e com maior permeabilidade a corantes. Este aumento da permeabilidade dentinária produzido pelo AC durante o preparo do canal pode ter permitido que o hipoclorito de sódio a 1,0% penetrasse mais profundamente nos túbulos dentinários, alcançando assim maior quantidade de bactérias e fungos. Contudo, novos ensaios devem ser realizado para estudar esta hipótese.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram a maior eficácia de eliminação de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* pelo hipoclorito de sódio a 5,25%, em comparação aos demais regimes de irrigação avaliados, independente da técnica de instrumentação empregada. Contudo, a escolha da substância mais apropriada a ser utilizada na terapia endodôntica deve depender também de outros fatores aqui não analisados, dentre eles, a biocompatibilidade com os tecidos periapicais. Sabe-se que com o aumento da concentração do hipoclorito de sódio aumenta-se também sua citotoxicidade (Pashley et al., 1985; Chang et al., 2001;

Heling et al., 2001; Zhang; Torabinejad, 2003; Gomes-Filho et al. 2008). Diversos relatos de acidentes com esta substância são encontrados na literatura, principalmente quando são utilizadas concentrações entre 2,5% a 6,15% (Witton; Brennan, 2005; Gursoy et al., 2006; Mehdipour et al., 2007; Crincoli et al., 2008; Kleier et al., 2008; Baldwin et al., 2009; De Sermeño et al., 2009; Doherty et al., 2009; Motta et al., 2009).

Livrar o canal radicular de MOs é de fato um objetivo que deve ser almejado durante a terapia endodôntica, porém, cabe recordar a célebre frase de Hippócrates (460-377 a.C) “*Primum non nocere*” (Primeiramente, não cause dano). A ânsia em se eliminar bactérias e fungos do sistema de canais radiculares durante o PQC não deve substituir a preocupação com o bem-estar do paciente. É imperioso recordar que não cabe ao endodontista “curar” o paciente, e sim promover condições para que o próprio sistema imunológico do indivíduo repare as mazelas causadas pela doença. Assim, o uso de associações de substâncias químicas e medicações não nocivas aos tecidos periapicais e novas técnicas de irrigação e preparo do canal radicular devem ser melhor estudados, sempre objetivando propor alternativas terapêuticas que promovam a limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares sem o risco de causar maior aflição ao hospedeiro.

7 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste estudo, e dentro dos parâmetros utilizados, pôde-se concluir, acerca da influência das técnicas de instrumentação e regimes de irrigação na desinfecção de canais radiculares que:

1. A técnica de instrumentação empregada durante o PQC não influencia na contagem final de UFCs do interior dos canais radiculares, seja em seu lúmen ou na intimidade de suas paredes dentinárias;
2. A utilização de ácido cítrico à 15% após hipoclorito de sódio a 1,0% , durante o PQC, potencializa a desinfecção alcançada pelo agente antimicrobiano, gerando resultados semelhantes ao hipoclorito de sódio na concentração de 5,25%.
3. A ausência de microrganismos na luz do canal radicular, após o PQC, não é fator indicativo de desinfecção do sistema de canais radiculares.

REFERÊNCIAS¹

Aguilar APS. Ação in vitro do extrato glicólico de gengibre e medicamentos sobre *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e sua endotoxina em canais radiculares [dissertação]. São José dos Campos: Universidade Estadual Paulista; 2009.

Akisue E, Gavini G. Efeito das soluções de AC à 25% e de EDTA à 17% na dureza dentinária. *ECLER Endod*. 2000;2(2):5-9.

Amaral KF, Rogero MM, Fock RA, Borelli P, Gavini G. Cytotoxicity analysis of EDTA and citric acid applied on murine resident macrophages culture. *Int Endod J*. 2007 May;40(5):338-43.

Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Rodríguez E, Liébana-Ureña J, Espigares-García M. Bactericidal activity of phosphoric acid, citric acid, and EDTA solutions against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008 Aug;106(2):84-9.

Baldwin VE, Jarad FD, Balmer C, Mair LH. Inadvertent injection of sodium hypochlorite into the periradicular tissues during root canal treatment. *Dent Update*. 2009 Jan-Feb;36(1):14-6, 19.

Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *J Endod*. 2000;26:695-8.

Berber VB, Gomes BP, Sena NT, et al. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *Int Endod J*. 2006 Jan;39(1):10-7.

Blome B, Braun A, Sobarzo V, Jepsen S. Molecular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using real-time polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol*. 2008 Out;23(5):384-90.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

Câmara 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 Aug;108(2):e55-61.

Cardoso MG. Estudo da eficiência da água ozonizada como solução irrigadora na eliminação de *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* e endotoxinas do canal radicular [tese]. São José dos Campos: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia; 2006.

Chandra SS, Miglani R, Srinivasan MR, Indira R. Antifungal efficacy of 5.25% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine gluconate, and 17% EDTA with and without an antifungal agent. *J Endod.* 2010 Apr;36(4):675-8.

Chang YC, Huang FM, Tai KW, Chou MY. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001 Oct;92(4):446-50.

Chávez De Paz LE, Bergenholtz G, Svensäter G. The effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria. *J Endod.* 2010 Jan;36(1):70-7.

Cheung GS, Ho MW. Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 2001;16:332-7.

de Chevigny C, Dao TT, Basrani BR, et al. Treatment outcome in endodontics: the Toronto study - phase 4: initial treatment. *J Endod.* 2008 Mar;34(3):258-63.

Chivatxaranukul P, Dashper SG, Messer HH. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2008 Oct;41(10):873-82.

Christensen CE, McNeal SF, Eleazer P. Effect of lowering the pH of sodium hypochlorite on dissolving tissue in vitro. *J Endod.* 2008 Apr;34(4):449-52. Epub 2008 Feb 7.

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 Aug;102(2):254-8. Epub 2006 Apr 21.

Cook J, Nandakumar R, Fouad AF. Molecular- and culture-based comparison of the effects of antimicrobial agents on bacterial survival in infected dentinal tubules. *J Endod.* 2007 Jun;33(6):690-2.

Crincoli V, Scivetti M, Di Bisceglie MB, Pilolli GP, Favia G. Unusual case of adverse reaction in the use of sodium hypochlorite during endodontic treatment: a case report. *Quintessence Int.* 2008 Feb;39(2):e70-3.

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

De Rossi A, Silva LAB, Leonardo MR, Rocha LB, Rossi MA. Effect of rotary or manual instrumentation, with or without a calcium hydroxide/1% chlorhexidine intracanal dressing, on the healing of experimentally induced chronic periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99:628-36.

de Sermeño RF, da Silva LA, Herrera H, Herrera H, Silva RA, Leonardo MR. Tissue damage after sodium hypochlorite extrusion during root canal treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009 Jul;108(1):e46-9. Epub 2009 May 13.

De-Deus G, Paciornik S, Mauricio MH. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. *Int Endod J.* 2006a May;39(5):401-7.

De-Deus G, Paciornik S, Pinho Mauricio MH, Prioli R. Real-time atomic force microscopy of root dentine during demineralization when subjected to chelating agents. *Int Endod J.* 2006b Sep;39(9):683-92.

De-Deus G, Reis C, Fidel S, Fidel RA, Paciornik S. Longitudinal and quantitative evaluation of dentin demineralization when subjected to EDTA, EDTAC, and citric acid: a co-site digital optical microscopy study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Mar;105(3):391-7.

Debelian GJ, Olsen I, Tronstad L. Observation of *Saccharomyces cerevisiae* in blood of patient undergoing root canal treatment. *Int Endod J*. 1997;30:313-7,51.

Delgado RJR. Avaliação in vitro da viabilidade de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* nos túbulos dentinários após aplicação de hidróxido de cálcio e clorexidina gel 2% [dissertação]. Bauru: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2007.

Doherty MA, Thomas MB, Dummer PM. Sodium hypochlorite accident--a complication of poor access cavity design. *Dent Update*. 2009 Jan-Feb;36(1):7-8, 10-2.

Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod*. 2006 Jun;32(6):527-31.

Egan W, Spratt DA, Lam JM, Moles DR, Gulabivala K. Prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int Endod J*. 2002;35(4), 321– 9.

Eldeniz AU, Erdemir A, Belli S. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. *J Endod*. 2005 Feb;31(2):107-10.

Estrela C. Ciência endodôntica. 1ªed. São Paulo: Editora Artes Médicas; 2004; 1050p.

Falk KW, Sedgley CM. The influence of preparation size on the mechanical efficacy of root canal irrigation in vitro. *J Endod*. 2005 Oct;31(10):742-5.

Ferrari PHP, Cai S, Bombana AC. Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections. *Int Endod J*. 2005;38: 372–80.

Foschi F, Cavrini F, Montebugnoli L, Stashenko P, Sambri V, Prati C. Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and association with defined clinical signs in Italian patients. *Oral Microbiol Immunol*. 2005 Oct;20(5):289-95.

Fouad AF, Zerella J, Barry J, Spångberg LS. Molecular detection of *Enterococcus* species in root canals of therapy-resistant endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;99:112-8.

Gavini G, Aun CE, Pesce HF. Análise das condições de limpeza do terço apical do canal radicular após preparo químico-cirúrgico. *Rev Odontol Univ São Paulo*. 1994 Jul-Set;8(3):155-62.

George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *Endod*. 2005 Dec;31(12):867-72.

Georgopoulou M, Kontakiotis E, Nakou M. Evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid and sodium hypochlorite on the anaerobic flora of the infected root canal. *Int Endod J*. 1994 May;27(3):139-43.

Gergi R, Rjeily JA, Sader J, Naaman A. Comparison of canal transportation and centering ability of twisted files, Pathfile-ProTaper system, and stainless steel Hand K-files by using computed tomography. *J Endod*. 2010 May;36(5):904-7. Epub 2010 Mar 7.

Gomes BPFA, Pinheiro ET, Sousa ELR, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. *Enterococcus faecalis* in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;102:247-53.

Gomes-Filho JE, Aurélio KG, Costa MM, Bernabé PF. Comparison of the biocompatibility of different root canal irrigants. *J Appl Oral Sci*. 2008 Apr;16(2):137-44.

Gursoy UK, Bostanci V, Kosger HH. Palatal mucosa necrosis because of accidental sodium hypochlorite injection instead of anaesthetic solution. *Int Endod J*. 2006 Feb;39(2):157-61.

Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res*. 1987 Aug;66(8):1375-9.

Hancock HH III, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;91:579-86.

Hand RE, Smith ML, Harrison JW. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod*. 1978 Feb;4(2):60-4.

Hassanien EE, Hashem A, Chalfin H. Histomorphometric study of the root apex of mandibular premolar teeth: an attempt to correlate working length measured with electronic and radiograph methods to various anatomic positions in the apical portion of the canal. *J Endod*. 2008 Apr;34(4):408-12. Epub 2008 Feb 7.

Heling I, Rotstein I, Dinur T, Szwec-Levine Y, Steinberg D. Bactericidal and cytotoxic effects of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate solutions in vitro. *J Endod*. 2001 Apr;27(4):278-80.

Ingle JI. The need for endodontic instrument standardization. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1955 Nov;8(11):1211-3.

Ingle JI. A standardized endodontic technique utilizing newly designed instruments and filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1961 Jan;14:83-91.

Johnson EM, Flannagan SE, Sedgley CM. Coaggregation interactions between oral and endodontic *Enterococcus faecalis* and bacterial species isolated from persistent apical periodontitis. *J Endod*. 2006 Oct;32(10):946-50. Epub 2006 Jul 12.

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

Kayaoglu G, Erten H, Ørstavik D. Possible role of the adhesin ace and collagen adherence in conveying resistance to disinfectants on *Enterococcus faecalis*. *Oral Microbiol Immunol*. 2008 Dec;23(6):449-54.

Kishen A, George S, Kumar R. Enterococcus faecalis-mediated biomineralized biofilm formation on root canal dentine in vitro. J Biomed Mater Res A. 2006 May;77(2):406-15.

Kleier DJ, Averbach RE, Mehdipour O. The sodium hypochlorite accident: experience of diplomates of the American Board of Endodontics. J Endod. 2008 Nov;34(11):1346-50. Epub 2008 Aug 30.

Krause TA, Liewehr FR, Hahn CL. The antimicrobial effect of MTAD, sodium hypochlorite, doxycycline, and citric acid on Enterococcus faecalis. J Endod. 2007 Jan;33(1):28-30. Epub 2006 Oct 27.

Lana MA, Ribeiro-Sobrinho AP, Stehling R, Garcia GD, Silva BK, Hamdan JS. Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. Oral Microbiol Immunol. 2001;16:100-5.

Liu H, Wei X, Ling J, Wang W, Huang X. Biofilm formation capability of Enterococcus faecalis cells in starvation phase and its susceptibility to sodium hypochlorite. J Endod. 2010 Apr;36(4):630-5. Epub 2010 Feb 6.

Loel DA. Use of acid cleanser in endodontic therapy. J Am Dent Assoc. 1975 Jan;90(1):148-51.

López FU, Fachin EV, Camargo Fontanella VR, Barletta FB, Só MV, Grecca FS. Apical transportation: a comparative evaluation of three root canal instrumentation techniques with three different apical diameters. J Endod. 2008 Dec;34(12):1545-8. Epub 2008 Oct 18.

Malheiros CF, Marques MM, Gavini G. In vitro evaluation of the cytotoxic effects of acid solutions used as canal irrigants. J Endod. 2005 Oct;31(10):746-8.

Marquis VL, Dao T, Farzaneh M, Abitbol S, Friedman S. Treatment outcome in endodontics: the Toronto study - Phase III: initial treatment. J Endod. 2006 Apr;32(4):299-306.

Mehdipour O, Kleier DJ, Averbach RE. Anatomy of sodium hypochlorite accidents. Compend Contin Educ Dent. 2007 Oct;28(10):544-6, 548, 550. Review

Mercade M, Duran-Sindreu F, Kuttler S, Roig M, Durany N. Antimicrobial efficacy of 4.2% sodium hypochlorite adjusted to pH 12, 7.5, and 6.5 in infected human root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009 Feb;107(2):295-8. Epub 2008 Dec 13.

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 Jan;33(1):21-3. Epub 2006 Oct 19.

Miranda TT, Vianna CR, Rodrigues L, Monteiro AS, Rosa CA, Corrêa A Jr. Diversity and frequency of yeasts from the dorsum of the tongue and necrotic root canals associated with primary apical periodontitis. *Int Endod J*. 2009 Sep;42(9):839-44.

Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J*. 2008 Dec;58(6):329-41.

Molander A, Reit C, Dahle'n G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1998;31:1-7.

Moore J, Fitz-Walter P, Parashos P. A micro-computed tomographic evaluation of apical root canal preparation using three instrumentation techniques. *Int Endod J*. 2009 Dec;42(12):1057-64.

Motta MV, Chaves-Mendonca MA, Stirton CG, Cardozo HF. Accidental injection with sodium hypochlorite: report of a case. *Int Endod J*. 2009 Feb;42(2):175-82.

Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod*. 2004 Nov;30(11):785-7.

Nair PN, Sjögren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod*. 1990;16:580-8.

Nikolaus BE, Wayman BE, Encinas E. The bactericidal effect of citric acid and sodium hypochlorite on anaerobic bacteria. *J Endod.* 1988 Jan;14(1):31-4.

Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JA. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. *Int Endod J.* 2004 Jan;37(1):38-41.

Ozawa K, Yagu-Uchi K, Yamanaka K, Yamashita Y, Ueba K, Miwatani T. Antagonistic effects of *Bacillus natto* and *Streptococcus faecalis* on growth of *Candida albicans*. *Microbiol Immunol.* 1979;23(12):1147-56.

Paiva JG de, Antoniazzi JH. *Endodontia: bases para a prática clínica.* 3ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 1988.

Pappen FG, Qian W, Aleksejūniene J, Leonardo Rde T, Leonardo MR, Haapasalo M. Inhibition of sodium hypochlorite antimicrobial activity in the presence of bovine serum albumin. *J Endod.* 2010 Feb;36(2):268-71. Epub 2009 Dec 4.

Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. *J Endod.* 1985 Dec;11(12):525-8.

Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J.* 2001;34:429-34.

Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP. The effectiveness of different acid irrigating solutions in root canal cleaning after Hand and rotary instrumentation. *J Endod.* 2006 Oct;32(10):993-7. Epub 2006 Jul 26.

Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J.* 2003;36:1-11.

Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2010 Mar;36(3):520-3.

Rôças IN, Hülsmann M, Siqueira JF Jr. Microorganisms in root canal-treated teeth from a German population. *J Endod*. 2008 Aug;34(8):926-31.

Rôças IN, Jung IY, Lee CY, Siqueira JF Jr. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. *J Endod*. 2004 Jul;30(7):504-8.

Rollison S, Barnett F, Stevens RH. Efficacy of bacterial removal from instrumented root canals in vitro related to instrumentation technique and size. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002 Sep;94(3):366-71.

Sakamoto M, Siqueira JF Jr, Rôças IN, Benno Y. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. *Oral Microbiol Immunol*. 2007 Feb;22(1):19-23.

Sakamoto M, Siqueira JF Jr, Rôças IN, Benno Y. Molecular analysis of the root canal microbiota associated with endodontic treatment failures. *Oral Microbiol Immunol*. 2008 Aug;23(4):275-81.

Sceiza MF, Daniel RL, Santos EM, Jaeger MM. Cytotoxic effects of 10% citric acid and EDTA-T used as root canal irrigants: an in vitro analysis. *J Endod*. 2001 Dec;27(12):741-3.

Schäfer E, Florek H. Efficiency of rotary nickel-titanium K3 instruments compared with stainless steel Hand K-Flexofile. Part 1. Shaping ability in simulated curved canals. *Int Endod J*. 2003a Mar;36(3):199-207

Schäfer E, Schlingemann R. Efficiency of rotary nickel-titanium K3 instruments compared with stainless steel Hand K-Flexofile. Part 2. Cleaning effectiveness and shaping ability in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J*. 2003 Mar;36(3):208-17.

Schäfer E, Schulz-Bongert U, Tulus G. Comparison of Hand stainless steel and nickel titanium rotary instrumentation: a clinical study. *J Endod*. 2004 Jun;30(6):432-5.

Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am.* 1974 Apr;18(2):269-96.

Sedgley C, Nagel A, Dahlén G, Reit C, Molander A. Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals. *J Endod.* 2006 Mar;32(3):173-7.

Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J.* 2005 Oct;38(10):735-42.

Sen BH, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Endod Dent Traumatol.* 1995 Feb;11(1):6-9.

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 Mar;109(3):e105-10.

Siqueira JF Jr, Magalhães KM, Rôças IN. Bacterial reduction in infected root canals treated with 2.5% NaOCl as an irrigant and calcium hydroxide /camphorated paramonochlorophenol paste as an intracanal dressing. *J Endod.* 2007a Jun;33(6):667-72. Epub 2007 Mar 26.

Siqueira JF Jr, Rôças IN. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009a Jun;107(6):870-8.

Siqueira JF Jr, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008 Nov;34(11):1291-1301.
Siqueira JF Jr, Rôças IN. The microbiota of acute apical abscesses. *J Dent Res.* 2009b Jan;88(1):61-5.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Lopes HP. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002a; 93:174-8.

Siqueira JF Jr, Rôças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97:85-94.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Lopes HP, Elias CN, de Uzeda M. Fungal infection of the radicular dentin. *J Endod.* 2002b;28:770-3.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Moraes SR, Santos KR. Direct amplification of rRNA gene sequences for identification of selected oral pathogens in root canal infections. *Int Endod J.* 2002c; 35:345-51.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Paiva SS, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007b Jul;104(1):122-30.

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

Siqueira JF Jr, Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97:632-4

Smith JJ, Wayman BE. An evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid as a root canal irrigant. *J Endod.* 1986 Feb;12(2):54-8.

Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* 2006 Feb; 32(2):93-8.

Subramanian K, Mickel AK. Molecular analysis of persistent periradicular lesions and root ends reveals a diverse microbial profile. *J Endod.* 2009 Jul;35(7):950-7.

Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod*. 1992 Sep;18(9):427-30.

Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1994 Oct;78(4):522-30.

Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998;85:86-93.

Tirali RE, Turan Y, Akal N, Karahan ZC. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of NaOCl and Octenisept in elimination of endodontic pathogens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009 Nov;108(5):e117-20.

Trepagnier CM, Madden RM, Lazzari EP. Quantitative study of sodium hypochlorite as an in vitro endodontic irrigant. *J Endod*. 1977 May;3(5):194-6.

Türk T, Ates M, Sen BH. The effect of treatment of radicular dentin on colonization patterns of *C. albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008;106:457-62

Vaudt J, Bitter K, Neumann K, Kielbassa AM. Ex vivo study on root canal instrumentation of two rotary nickel-titanium systems in comparison to stainless steel Hand instruments. *Int Endod J*. 2009 Jan;42(1):22-33.

Vianna ME, Horz HP, Conrads G, Feres M, Gomes BP. Comparative analysis of endodontic pathogens using checkerboard hybridization in relation to culture. *Oral Microbiol Immunol*. 2008 Aug;23(4):282-90.

Vivacqua-Gomes N, Gurgel-Filho ED, Gomes BP, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Recovery of *Enterococcus faecalis* after single- or multiple-visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. *Int Endod J*. 2005 Oct;38(10):697-704.

Walia HM, Brantley WA, Gerstein H. An initial investigation of the bending and torsional properties of Nitinol root canal files. *J Endod*. 1988 Jul;14(7):346-51.

Waltimo TM, Sireén EK, Torkko HL, Olsen I, Haapasalo MP. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J*. 1997; 30:96-101.

Williamson AE, Cardon JW, Drake DR. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2009 Jan;35(1):95-7. Epub 2008 Nov 7.

Witton R, Brennan PA. Severe tissue damage and neurological deficit following extravasation of sodium hypochlorite solution during routine endodontic treatment. *Br Dent J*. 2005 Jun 25;198(12):749-50.

Yamaguchi M, Yoshida K, Suzuki R, Nakamura H. Root canal irrigation with citric acid solution. *J Endod*. 1996 Jan;22(1):27-9.

Zaccaro Scelza MF, da Silva Pierro VS, Chagas MA, da Silva LE, Scelza P. Evaluation of inflammatory response of EDTA, EDTA-T, and citric acid in animal model. *J Endod*. 2010 Mar;36(3):515-9. Epub 2010 Jan 25.

Zhang W, Torabinejad M, Li Y. Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT-tetrazolium method. *J Endod*. 2003 Oct;29(10):654-7.

APÊNDICE A - Tabelas contendo as médias dos valores de UFCs de *E. faecalis* de acordo com a técnica de instrumentação e regime de irrigação

Contagem de UFC/mL de *E. faecalis* antes (log 6) e após (log) o PQC quando do uso de instrumentos manuais

MANUAL SORO				MANUAL NaOCI 1%				MANUAL NaOCI 1% + ÁC. CÍTRICO				MANUAL NaOCI 5,25%			
AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 6)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %	AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 6)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %	AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 6)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %	AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 6)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %
1	486,67	4666,67	99,999	1	150,00	0,00	100,00	1	351,67	0,00	100,00	1	323,33	0,00	100,00
2	338,33	11333,3	99,996	2	433,33	166,67	99,999	2	461,67	183,33	99,999	2	353,33	0,00	100,00
3	430,00	0,00	100,00	3	365,00	216,67	99,999	3	338,33	0,00	100,00	3	66,67	0,00	100,00
4	81,67	4000,00	99,995	4	513,33	416,67	99,999	4	490,00	233,33	99,999	4	525,00	0,00	100,00
5	353,33	733,33	99,999	5	413,33	350,00	99,999	5	230,00	0,00	100,00	5	321,67	0,00	100,00
6	353,33	5833,33	99,998	6	101,67	0,00	100,00	6	85,00	133,33	99,999	6	438,33	0,00	100,00
7	345,00	4333,33	99,998	7	250,00	0,00	100,00	7	425,00	166,67	99,999	7	98,33	0,00	100,00
8	428,00	8000,00	99,998	8	371,67	250,00	99,999	8	93,33	0,00	100,00	8	380,00	0,00	100,00
9	513,00	10833,3	99,997	9	396,67	0,00	100,00	9	280,00	166,67	99,999	9	341,67	0,00	100,00
10	351,33	0,00	100,00	10	363,33	400,00	99,999	10	423,33	216,67	99,999	10	408,33	0,00	100,00
MÉDIA	368,07	4973,33	99,998	MÉDIA	335,83	180,00	99,999	MÉDIA	317,83	110,00	99,999	MÉDIA	325,67	0,00	100,00

Contagem de UFC/mL de *E. faecalis* antes (log 6) e após (log) o PQC quando do uso de instrumentos rotatórios

ROTATÓRIO SORO					ROTATÓRIO NaOCI 1%					ROTATÓRIO NaOCI 1% + ÁC. CÍTRICO					ROTATÓRIO NaOCI 5,25%				
AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 6)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %		AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 6)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %		AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 6)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %		AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 6)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %	
1	110,00	2000,0	99,998		1	130,00	0,00	100,00		1	498,33	216,67	99,999		1	358,33	0,00	100,00	
2	465,00	8333,3	99,998		2	248,33	0,00	100,00		2	321,67	0,00	100,00		2	426,67	0,00	100,00	
3	275,00	3500,0	99,998		3	478,33	333,33	99,999		3	343,33	133,33	99,999		3	345,00	0,00	100,00	
4	418,33	7666,6	99,998		4	360,00	233,33	99,999		4	96,67	0,00	100,00		4	431,67	0,00	100,00	
5	94,00	0,00	100,00		5	475,00	0,00	100,00		5	333,33	33,33	99,999		5	485,00	0,00	100,00	
6	260,00	7666,6	99,997		6	348,33	633,33	99,999		6	480,00	166,67	99,999		6	91,67	0,00	100,00	
7	360,00	0,00	100,00		7	476,67	0,00	100,00		7	323,33	0,00	100,00		7	333,33	0,00	100,00	
8	310,00	4333,3	99,998		8	85,00	400,00	99,999		8	221,67	216,67	99,999		8	353,33	0,00	100,00	
9	438,33	12333,3	99,997		9	556,67	0,00	100,00		9	451,67	250,00	99,999		9	423,33	0,00	100,00	
10	330,00	8166,6	99,997		10	363,33	66,67	99,999		10	351,67	0,00	100,00		10	341,67	0,00	100,00	
MÉDIA	306,07	5400,0	99,998		MÉDIA	352,17	166,67	99,999		MÉDIA	342,17	101,67	99,999		MÉDIA	359,00	0,00	100,00	

Contagem de UFC/mL (log) de *E. faecalis* nas diferentes porções do canal radicular após o PQC quando do uso de instrumentos manuais

MANUAL SORO				MANUAL NaOCI 1%				MANUAL NaOCI 1% + ÁC. CÍTRICO				MANUAL NaOCI 5,25%			
AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)
1	2000,00	1150,00	1166,67	1	83,33	83,33	16,67	1	0,00	0,00	0,00	1	0,00	0,00	0,00
2	3000,00	933,33	1500,00	2	166,67	233,33	100,00	2	316,67	66,67	0,00	2	0,00	0,00	0,00
3	700,00	2166,67	1166,67	3	33,33	50,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00	3	33,33	0,00	0,00
4	3000,00	2000,00	1000,00	4	216,67	233,33	83,33	4	166,67	116,67	0,00	4	0,00	16,67	0,00
5	2000,00	2833,33	2166,67	5	316,67	316,67	100,00	5	0,00	0,00	0,00	5	0,00	0,00	0,00
6	2333,33	2166,67	1500,00	6	16,67	50,00	0,00	6	133,33	166,67	133,33	6	66,67	0,00	0,00
7	2000,00	1016,67	1500,00	7	233,33	150,00	50,00	7	200,00	16,67	0,00	7	0,00	33,33	0,00
8	1316,67	866,67	866,67	8	233,33	183,33	50,00	8	0,00	33,33	0,00	8	0,00	0,00	0,00
9	5000,00	2533,00	1166,67	9	16,67	0,00	0,00	9	0,00	0,00	0,00	9	16,67	0,00	0,00
10	883,33	2450,00	683,33	10	250,00	400,00	116,67	10	83,33	83,33	0,00	10	0,00	16,67	0,00
MÉDIA	2223,33	1811,63	1271,67	MÉDIA	156,67	170,00	51,67	MÉDIA	90,00	48,33	13,33	MÉDIA	11,67	6,67	0,00

Contagem de UFC/mL (log) de *E. faecalis* nas diferentes porções do canal radicular após o PQC quando do uso de instrumentos rotatórios

ROTATÓRIO SORO					ROTATÓRIO NaOCI 1%					ROTATÓRIO NaOCI 1% + ÁC. CÍTRICO					ROTATÓRIO NaOCI 5,25%				
AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)
1	3000,00	1216,67	1500,00	1	250,00	266,67	16,67	1	200,00	66,67	50,00	1	0,00	0,00	0,00	1	0,00	0,00	0,00
2	5333,33	3666,67	1666,67	2	33,33	83,33	0,00	2	0,00	0,00	0,00	2	18,33	33,33	0,00	2	18,33	33,33	0,00
3	2000,00	2000,00	900,00	3	116,67	183,33	500,00	3	50,00	133,33	33,33	3	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
4	4000,00	4000,00	1166,67	4	333,33	216,67	250,00	4	0,00	16,67	0,00	4	0,00	0,00	0,00	4	0,00	0,00	0,00
5	3166,67	1150,00	1833,33	5	0,00	0,00	0,00	5	16,67	0,00	0,00	5	66,67	33,33	0,00	5	66,67	33,33	0,00
6	2000,00	900,00	1333,33	6	450,00	666,67	516,67	6	200,00	0,00	0,00	6	0,00	0,00	0,00	6	0,00	0,00	0,00
7	1150,00	3666,67	1333,33	7	333,33	416,67	316,67	7	0,00	50,00	16,67	7	0,00	16,67	0,00	7	0,00	16,67	0,00
8	2000,00	2500,00	2500,00	8	716,67	466,67	283,33	8	16,67	0,00	0,00	8	16,67	0,00	0,00	8	0,00	0,00	0,00
9	2500,00	2500,00	2833,33	9	183,33	283,33	0,00	9	150,00	50,00	16,67	9	33,33	16,67	0,00	9	33,33	16,67	0,00
10	833,33	850,00	850,00	10	0,00	50,00	0,00	10	0,00	0,00	0,00	10	0,00	0,00	0,00	10	0,00	0,00	0,00
MÉDIA	2598,33	2245,00	1591,67	MÉDIA	241,67	263,33	188,33	MÉDIA	63,33	31,67	11,67	MÉDIA	11,83	10,00	0,00	MÉDIA	11,83	10,00	0,00

APÊNDICE B - Tabelas contendo as médias dos valores de UFCs de *C. albicans* de acordo com a técnica de instrumentação e regime de irrigação

Contagem de UFC/mL de *C. albicans* antes (log 6) e após (log) o PQC quando do uso de instrumentos manuais

MANUAL SORO				MANUAL NaOCl 1%				MANUAL NaOCl 1% + ÁC. CÍTRICO				MANUAL NaOCl 5,25%			
AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 2)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %	AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 2)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %	AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 2)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %	AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 2)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %
1	933,33	883,33	99,05	1	333,33	0,00	100,00	1	533,33	0,00	100,00	1	500,00	0,00	100,00
2	700,00	466,67	99,33	2	816,67	200,00	99,76	2	966,67	116,67	99,88	2	700,00	0,00	100,00
3	750,00	816,67	98,91	3	716,67	183,33	99,74	3	733,33	166,67	99,77	3	200,00	0,00	100,00
4	626,67	783,33	98,75	4	966,67	316,67	99,67	4	966,67	133,33	99,86	4	933,33	0,00	100,00
5	655,00	783,33	98,80	5	716,67	0,00	100,00	5	625,00	66,67	99,89	5	766,67	0,00	100,00
6	600,00	666,67	98,89	6	483,33	0,00	100,00	6	450,00	0,00	100,00	6	600,00	0,00	100,00
7	775,00	933,33	98,80	7	500,00	0,00	100,00	7	700,00	0,00	100,00	7	400,00	0,00	100,00
8	850,00	683,33	99,20	8	683,33	133,33	99,80	8	300,00	0,00	100,00	8	750,00	0,00	100,00
9	800,00	950,00	98,81	9	716,67	166,67	99,77	9	500,00	0,00	100,00	9	833,33	0,00	100,00
10	791,67	633,33	99,20	10	666,67	0,00	100,00	10	866,67	33,33	99,96	10	716,67	0,00	100,00
MÉDIA	748,17	760,00	98,97	MÉDIA	660,00	100,00	99,87	MÉDIA	664,17	51,67	99,94	MÉDIA	640,00	0,00	100,00

Contagem de UFC/mL de *C. albicans* antes (log 6) e após (log) o PQC quando do uso de instrumentos rotatórios

ROTATÓRIO SORO					ROTATÓRIO NaOCl 1%					ROTATÓRIO NaOCl 1% + ÁC. CÍTRICO					ROTATÓRIO NaOCl 5,25%				
AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 2)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %	AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 2)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %	AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 2)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %	AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 2)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %	AMOSTRA	ANTES UFC/mL (log 2)	DEPOIS UFC/mL (log)	REDUÇÃO %
1	400.00	400.00	99.00	1	291,67	0,00	100,00	1	916,67	100,00	99,89	1	650,00	0,00	100,00	1	650,00	0,00	100,00
2	833.33	700.00	99.16	2	450,00	0,00	100,00	2	550,00	0,00	100,00	2	783,33	0,00	100,00	2	783,33	0,00	100,00
3	700.00	700.00	99.00	3	783,33	183,33	99,77	3	783,33	116,67	99,85	3	600,00	0,00	100,00	3	600,00	0,00	100,00
4	800.00	966.67	98.79	4	700,00	100,00	99,86	4	288,33	0,00	100,00	4	600,00	0,00	100,00	4	600,00	0,00	100,00
5	433.33	633.33	98.54	5	933,33	250,00	99,73	5	733,33	0,00	100,00	5	983,33	16,67	99,98	5	983,33	16,67	99,98
6	700.00	800.00	98.86	6	700,00	73,33	99,90	6	966,67	66,67	99,93	6	255,00	0,00	100,00	6	255,00	0,00	100,00
7	291.67	950.00	96.74	7	966,67	216,67	99,78	7	766,67	0,00	100,00	7	716,67	0,00	100,00	7	716,67	0,00	100,00
8	766.67	650.00	99.15	8	366,67	0,00	100,00	8	550,00	0,00	100,00	8	833,33	0,00	100,00	8	833,33	0,00	100,00
9	933.33	900.00	99.04	9	1050,00	166,67	99,84	9	716,67	83,33	99,88	9	700,00	16,67	99,98	9	700,00	16,67	99,98
10	716.67	766.67	98.93	10	466,67	0,00	100,00	10	600,00	33,33	99,94	10	600,00	0,00	100,00	10	600,00	0,00	100,00
MÉDIA	657.50	746.67	98.72	MÉDIA	670,83	99,00	99,89	MÉDIA	687,17	40,00	99,95	MÉDIA	672,17	3,33	100,00				

Contagem de UFC/mL (log) de *C. albicans* nas diferentes porções do canal radicular após o PQC quando do uso de instrumentos manuais

MANUAL SORO				MANUAL NaOCI 1%				MANUAL NaOCI 1% + ÁC. CÍTRICO				MANUAL NaOCI 5,25%			
AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)
1	683,33	416,67	133,33	1	33,33	0,00	0,00	1	33,33	16,67	0,00	1	0,00	0,00	0,00
2	416,67	233,33	16,67	2	100,00	183,33	33,33	2	66,67	33,33	50,00	2	33,33	16,67	0,00
3	516,67	600,00	283,33	3	116,67	66,67	0,00	3	16,67	0,00	0,00	3	16,67	16,67	0,00
4	550,00	600,00	233,33	4	250,00	166,67	133,33	4	33,33	33,33	33,33	4	0,00	0,00	0,00
5	483,33	500,00	0,00	5	83,33	116,67	66,67	5	16,67	33,33	0,00	5	16,67	0,00	0,00
6	516,67	850,00	400,00	6	100,00	50,00	0,00	6	0,00	0,00	0,00	6	0,00	0,00	0,00
7	766,67	816,67	316,67	7	16,67	0,00	0,00	7	0,00	0,00	0,00	7	0,00	0,00	0,00
8	500,00	266,67	0,00	8	216,67	116,67	33,33	8	16,67	0,00	16,67	8	33,33	33,33	0,00
9	750,00	616,67	400,00	9	116,67	216,67	133,33	9	0,00	0,00	0,00	9	0,00	0,00	0,00
10	766,67	816,67	216,67	10	0,00	0,00	0,00	10	66,67	50,00	0,00	10	0,00	0,00	0,00
MÉDIA	595,00	571,67	200,00	MÉDIA	103,33	91,67	40,00	MÉDIA	25,00	16,67	10,00	MÉDIA	10,00	6,67	0,00

Contagem de UFC/mL (log) de *C. albicans* nas diferentes porções do canal radicular após o PQC quando do uso de instrumentos rotatórios

ROTATÓRIO SORO					ROTATÓRIO NaOCl 1%					ROTATÓRIO NaOCl 1% + ÁC. CÍTRICO					ROTATÓRIO NaOCl 5,25%				
AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)	AMOSTRA	TERÇO CERVICAL UFC/mL (log)	TERÇO MÉDIO UFC/mL (log)	TERÇO APICAL UFC/mL (log)
1	350.00	433.33	16.67	1	116.67	100.00	0.00	1	83.33	50.00	33.33	1	16.67	16.67	0.00	1	16.67	16.67	0.00
2	500.00	683.33	116.67	2	66.67	116.67	0.00	2	16.67	16.67	0.00	2	0.00	0.00	0.00	2	0.00	0.00	0.00
3	433.33	483.33	266.67	3	216.67	66.67	100.00	3	33.33	33.33	0.00	3	0.00	0.00	0.00	3	0.00	0.00	0.00
4	750.00	766.67	300.00	4	116.67	133.33	16.67	4	0.00	0.00	0.00	4	0.00	0.00	0.00	4	0.00	0.00	0.00
5	566.67	450.00	200.00	5	133.33	116.67	166.67	5	16.67	0.00	33.33	5	16.67	16.67	0.00	5	16.67	16.67	0.00
6	633.33	416.67	33.33	6	200.00	16.67	16.67	6	33.33	66.67	16.67	6	0.00	0.00	0.00	6	0.00	0.00	0.00
7	566.67	466.67	183.33	7	283.33	150.00	16.67	7	0.00	0.00	0.00	7	0.00	0.00	0.00	7	0.00	0.00	0.00
8	433.33	550.00	200.00	8	0.00	116.67	0.00	8	0.00	0.00	0.00	8	0.00	0.00	0.00	8	0.00	16.67	0.00
9	533.33	450.00	166.67	9	150.00	150.00	116.67	9	50.00	16.67	16.67	9	50.00	16.67	16.67	9	0.00	0.00	0.00
10	600.00	550.00	233.33	10	116.67	33.33	0.00	10	16.67	0.00	0.00	10	16.67	0.00	0.00	10	16.67	0.00	0.00
MÉDIA	536.67	525.00	171.67	MÉDIA	140.00	100.00	43.33	MÉDIA	25.00	18.33	10.00	MÉDIA	5.00	5.00	0.00	MÉDIA	5.00	5.00	0.00

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia
Comitê de Ética em Pesquisa**

**PARECER DE APROVAÇÃO
FR – 258146
Protocolo 66/2009**

O grupo de trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa "**Desinfecção de canais radiculares preparados por diferentes técnicas de instrumentação e regimes de irrigação**", de responsabilidade do(a) Pesquisador(a) Vitor César Nakamura, sob orientação do(a) Prof.(a) Dr.(a) Giulio Gavini.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 11 de maio de 2009.

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Coordenador do CEP-FOUSP