MARIO FRANCISCO DE PASQUALI LEONARDO

**Efetividade de diferentes sistemas para o preparo do canal radicular na
eliminação de *Enterococcus faecalis***

Versão Original

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. Manoel Eduardo de Lima Machado.

São Paulo

2012

Leonardo MFP. Efetividade de diferentes sistemas de preparo do canal radicular na eliminação de *Enterococcus faecalis*. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: / /2012

Banca Examinadora

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Carlos e Sandra, os quais, com humildade e amor, sempre priorizaram a família, agradeço pelo incentivo, amizade, exemplo, dedicação, educação e afeto em todas as fases da minha vida. Agradeço, sobretudo, a Deus pelos pais que tenho. Amo vocês.

À minha irmã, Mariana, pelo seu carinho, alegria e personalidade. Muito feliz estou pelo seu momento emocional, espiritual e motivador. Expresso, aqui, o meu amor por você.

Ao meu vovô, Mario Roberto Leonardo, um ser humano por quem tenho muita admiração. Seu amor pela endodontia cativa e envolve quem está ao seu lado. Devido à sua influência, hoje, sou cirurgião-dentista e endodontista. Durante a minha graduação, ele perguntou-me qual matéria mais apreciava na faculdade, e eu lhe respondi: “_Cirurgia.” - Ele olhou em meus olhos e disse: “_Ah! Então você fará cirurgia parendodôntica?” - Pela minha inexperiência, ou falta de maturidade, sempre tentei fugir dessa especialidade. Mas digo que ele envolveu-me e cativou-me. Hoje, sou muito feliz com o que faço: Endodontia. Obrigado, vovô, meu ídolo!

Ao meu tio, Renato, o mais intelectual que conheci. Em todos os momentos juntos, aprendi e cresci. Seu carisma, respeito internacional, dedicação e inteligência inspiram-me. Agradeço pela preocupação para com o meu futuro e, principalmente, por ser meu grande amigo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por sempre estar comigo.

Ao Prof. Dr. Manoel Eduardo de Lima Machado, meu profundo agradecimento, por ter me recebido em sua casa, oferecendo-me amparo e afetividade, bem como por ter acreditado em minha pessoa e pelo aprendizado, principalmente, na arte de lecionar.

Ao Prof. Dr. Giulio Gavini, por sua sapiência e dedicação com a pós-graduação.

À Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro-Tanomaru, pela sua afeição para com esta tese, amizade cultivada e o seu compromisso para a prosperidade da FOAr.

Ao Prof. Dr. Mario Tanomaru-Filho, novamente pela amizade e empenho para a publicação deste trabalho.

A todos os Professores do Departamento de Dentística da FOU SP, pelos ensinamentos e receptividade.

A todos os Professores do Departamento de Endodontia da FOAr, por todo suporte e convivência prazerosa.

Ao Prof. Dr. Renato Miotto Palo, grande incentivador para a minha vinda à São Paulo.

Ao Prof. Dr. Gilson Sydney, pelos ensinamentos e apreço desde a graduação.

Ao Prof. Dr. Sérgio Herrera, pela disponibilidade e convite de trabalhos e cursos.

À Profa. Dra. Maine Skelton, por sua generosidade e convites para participar de congressos.

Ao Prof. Dr. Celso Kenji, grande dedicação no meu aprendizado endodôntico.

À Profa. Dra. Silvana Cai, pelos seus ensinamentos e dedicação.

À Profa. Dra. Maria Letícia, pelos convites para ministrar aulas em sua especialização.

Aos meus amigos do curso de pós-graduação Elaine, Felipe, Gustavo, Laila, Leandro, Niltinho, Rodrigo, Simony, Thayse, pelos momentos de convívio e companheirismo; Ao Cleber, pelas oportunidades, amizade e trabalhos em conjunto, a Regina pelo carinho e amizade; e em especial ao George, grande irmão, um ser humano de infinita qualidade, muito obrigado por todos os conselhos, conversas, brincadeiras e positividade, sempre preocupado comigo e grande incentivador para o meu avanço didático e pessoal. Fica aqui a minha eterna gratidão.

Ao Prof. Carlos Alberto Battaglini “Caca”, pela oportunidade de ministrar no CIOSP.

À secretaria do Departamento de Dentística, especialmente à Ana Maria, não podendo esquecer-me de Selma e Leandro.

À Sonia, do laboratório de Dentística, pela ajuda e disponibilidade do laboratório.

À equipe do Prof. Machado (Edgard, Fernando, Guilherme e Márcia, pela amizade e companheirismo).

À Dona Maria, por ter me acolhido como um filho em sua residência, aumentando, assim, a nossa família.

Ao grande e melhor amigo Ricardo (“Luigi”), modelo de caráter, humildade, trabalho e inteligência. Sortudo eu por ter a sua amizade!

Às minhas amigas Karla e Patrícia, exemplos de dedicação. Muito obrigado pela fraternidade.

Ao Alex, da Endovita, sempre disposto a ajudar.

A todos os familiares, especialmente à Carol, Laura e tia Tata, por me “aguentarem” durante dois meses em Araraquara, bem como minha vovó Marisa, contando as histórias da Endodontia.

Ao primo Rubão, pelas conversas e carinho.

A todos os amigos, pelos momentos vividos incríveis.

Aos alunos de graduação da turma 108 FOUSP, amizades concretizadas, respeito e carinho mútuo. Muito obrigado!

À Capes, pela bolsa de estudos concedida.

"Uma vida sem desafios não vale a pena ser vivida."

Sócrates

Leonardo MFP. Efetividade de diferentes sistemas de preparo do canal radicular na eliminação de *Enterococcus faecalis* [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão Original.

RESUMO

O objetivo deste estudo consiste em avaliar a efetividade de diferentes sistemas empregados no preparo biomecânico, dentre eles: *Self-adjusting file* (SAF), *TiLOS Anatomic Endodontic Technology System* (TiLOS) e *Mtwo* sobre a eliminação de *Enterococcus faecalis* cultivados em canais radiculares. Para isso, foram selecionados 47 prés-molares inferiores humanos, os quais foram contaminados por *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) durante 21 dias e divididos em três grupos: GI - SAF com irrigação contínua; GII - EndoEze Tilos e irrigação com auxílio de agulhas NaviTip; GIII - MTwo e irrigação com NaviTip a cada troca de instrumento. A irrigação foi realizada com solução de NaOCl a 2,5%. Coletas bacterianas foram realizadas em três tempos experimentais: coleta da contaminação (S1), posterior ao preparo dos canais radiculares (S2) e após sete dias do preparo biomecânico (S3). Os dados em UFC foram submetidos aos testes ANOVA e Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn com $P < 0.05$. Na análise dos resultados, foi observada redução de *E. faecalis* após preparo ($P < .05$) em todos os grupos, sem diferença significativa entre os grupos ($P > .05$). A coleta final demonstrou aumento bacteriano similar em todos os grupos, esclarecendo a viabilidade das bactérias incubadas. Dessa forma, conclui-se que o preparo dos canais radiculares realizado com SAF, EndoEze Tilos e Mtwo contribuem na desinfecção do canal radicular, sem, todavia, eliminar o *E. faecalis* do sistema de canais radiculares.

Palavras-chave: Preparo do canal radicular, instrumentação rotatória, instrumentos endodônticos, *Enterococcus faecalis*.

Leonardo MFP. Effectiveness of diferente root canal preparation systems against *Enterococcus faecalis* [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão Original.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of different chemo-mechanical systems for root canal preparation – Self-adjusting File (SAF), TiLOS Anatomic Endodontic Technology System (TiLOS), and Mtwo – against *Enterococcus faecalis* in the canal. Forty seven human mandibular bicuspid were contaminated with *E. faecalis* (ATCC 29212) for 21 days and divided into groups according to preparation method: SAF group with continuous irrigation; TiLOS; Endo-Eze group and irrigation with a NaviTip needle; Mtwo group and irrigation with NaviTip. The irrigant used was 2.5% NaOCl. Bacterial harvests were performed after the contamination period (initial harvest), immediately post-preparation, and seven days after chemo-mechanical preparation. Data were expressed as CFU and subjected to ANOVA and Tukey or Kruskal-Wallis and Dunn tests at $P < 0.05$. Reduction in *E. faecalis* was observed after preparation ($P < .05$), with no significant differences between the groups ($P > .05$). The final harvest demonstrated statistically similar increase in the bacterial counts in all groups. Root canal preparation using SAF, TiLOS; Endo-Eze, and Mtwo systems contribute for the disinfection of the root

Keywords: *Enterococcus faecalis*, self-adjusting file, root canal preparation, root canal infection, endodontic treatment

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 - Vedamento apical e impermeabilização das raízes	41
Figura 4.2 - Microplaca de cultura celular de 24 poços	42
Figura 4.3 - Troca de meio de cultura	43
Figura 4.4 - Transferência do cone de papel absorvente ao tubo teste (<i>Eppendorf</i>) para diluições.....	44
Figura 4.5 - Diluição seriada	44
Figura 4.6 - Alíquotas de 20 µL semeados em triplicata em placas de Petri.....	45
Figura 4.7 – Contagem do número de UFC/mL de <i>Enterococcus faecalis</i>	45
Figura 4.8 – Sistema SAF	46
Figura 4.9 – Detalhe da lima SAF em maior aumento.....	47
Figura 4.10 – Sistema TiLOS	48
Figura 4.11 – Contra-ângulo Endo-Eze	48
Figura 4.12 – Preparo através do sistema Mtwo	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Comparação entre os grupos no momento inicial, pós-preparo e final (Média e desvio padrão de UFC/mL log)	52
--	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 6.1– Comparação entre os grupos no momento inicial, pós-preparo e final	51
Gráfico 6.2 - Representação gráfica da comparação da contaminação pelo <i>Tukey's test</i>	52
Gráfico 6.3 – Demonstração da coleta pós-preparo pelo <i>Kruskal-Wallis test</i>	53
Gráfico 6.4 – Representação gráfica após sete dias através do <i>Tukey's test</i>	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAE	<i>American Association of Endodontists</i>
AET	<i>Anatomic Endodontic Technology</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
Ca(OH) ₂	Hidróxido de cálcio
CHX	clorexidina
CRT	comprimento real de trabalho
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
FOAr	Faculdade de Odontologia de Araraquara
LPS	lipopolissacarídeo de membrana
MEV	microscopia eletrônica de varredura
Min	minuto
mL	mililitro
µL	microlitro
mm	milímetros
NaOCl	hipoclorito de sódio
NiTi	níquel-titânio
nm	nanômetro
rpm	rotações por minuto
PBM	preparo biomecânico
PMCC	Paramonoclorofenol canforado
PUI	Irrigação ultrassônica passiva
SAF	Self-Adjusting File
SFE	solução fisiológica estéril
TSB	<i>Tryptic Soy Broth</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia

LISTA DE SÍMBOLOS

#	número
°	graus
°C	graus <i>Celsius</i>
%	percentagem
x	vezes
-	menos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 Evolução dos instrumentos e técnicas endodônticas	17
2.2 Ensaio envolvendo a performance do sistema rotatório Mtwo	18
2.3 Estudos com o sistema oscilatório TiLOS	19
2.4 Sistema <i>Self-Adjusting File</i> (SAF)	21
2.5 Pesquisas envolvendo a descontaminação do canal radicular	23
2.6 Investigações da descontaminação do canal radicular através do preparo biomecânico	29
2.7 Estudos sobre <i>Enterococcus faecalis</i>	35
3 PROPOSIÇÃO	37
4 MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1 Material	38
4.2 Métodos	40
4.2.1 Seleção dos dentes	40
4.2.2 Preparo dos dentes	40
4.2.3 Contaminação dos espécimes	42
4.2.4 Coleta de confirmação da contaminação	43
4.2.5 Divisão dos grupos experimentais	45
4.2.6 Preparo biomecânico dos espécimes.....	46
4.2.7 Coleta e análise microbiológica.....	49
5 RESULTADOS.....	51
6 DISCUSSÃO	54
7 CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS.....	59
APÊNDICES	66
ANEXOS	68

1 INTRODUÇÃO

A terapia endodôntica tem por finalidade alcançar a limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares. Para atingir esse objetivo, é necessário um eficiente preparo biomecânico do canal radicular.

Nas últimas décadas, a endodontia apresentou grande evolução nos recursos tecnológicos. A introdução dos instrumentos rotatórios de níquel e titânio acionados a motor resultou em melhor qualidade do preparo, o qual promove uma instrumentação mais segura, preservando a anatomia original do canal radicular, notável desgaste de dentina e agilidade ao tratamento, resultando em maior conforto tanto ao profissional quanto ao paciente.

Independentemente dos instrumentos desenvolvidos, a anatomia do canal radicular é fator a se considerar, principalmente em áreas de istmos, ramificações e achatamentos. Nesse particular, os instrumentos rotatórios e oscilatórios desenvolveram arquiteturas e técnicas com a proposta de ação nessas áreas, favorecendo a cinemática de “pincelamento” ou, até mesmo, o movimento de limagem.

Ainda que apresente resultados clínicos atraentes, bem como boa capacidade de limpeza, corte, segurança, presteza e modelagem do canal radicular, pesquisas que investiguem a capacidade de desinfecção desses novos implementos endodônticos tornam-se oportunas.

Nesse aspecto, ensaios em canais radiculares *ex vivo* representam um modelo experimental interessante, uma vez que permitem a inoculação e cultivo de bactérias em seu interior, bem como a investigação dessa contaminação e apreciação da desinfecção após o preparo biomecânico.

Considerando-se as diversidades presentes nos diferentes instrumentos, dentre elas destacam-se o seu *design* e conseqüentemente modo operacional, torna-se lícito observar o desempenho destes frente à desinfecção do sistema de canais radiculares.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Os microrganismos desenvolvem um papel fundamental na etiologia das doenças da polpa e do periápice, fato já demonstrado por Kakehashi et al. (1965) e Sundquist (1992). Assim, a desinfecção do canal radicular é essencial para o sucesso do tratamento endodôntico (Stevens; Grossman, 1983; Ricucci et al., 2009).

Para uma melhor orientação quanto ao assunto abordado, torna-se interessante demonstrar a evolução da endodontia, de seus instrumentos e técnicas, bem como elucidar instrumentos recém-lançados pela indústria.

2.1 Evolução dos instrumentos e técnicas endodônticas

A endodontia teve o seu primeiro instrumento criado em 1838, por Maynard, confeccionada a partir de uma mola de relógio. Já naquela época, o objetivo era limpar e alargar o canal radicular.

Durante muito tempo, permaneceu essa técnica de preparo ápice/coroa, não havendo consenso entre os profissionais com relação à forma, tipo e característica da parte ativa dos instrumentos endodônticos (Leonardo; Leonardo, 2002). Em 1955, Ingle aventou a possibilidade de fabricarem instrumentos endodônticos padronizados em suas conicidades, numeração e diâmetro da parte ativa e, em 1961, ele publicou o primeiro trabalho sobre a necessidade do emprego de instrumentos padronizados.

Nesse mesmo ano, a fabricação das limas de aço carbono foi substituída pelo aço inoxidável devido às suas melhores propriedades Craig e Peyton (1963). Clem, em 1969 sugeriu a utilização de instrumentos de pequeno calibre no terço apical, com recuo progressivo e aumento no diâmetro no sentido ápice-coroa.

Em um trabalho que se tornou clássico na literatura, Schilder (1974) destacou que o objetivo principal do preparo do canal radicular seria conseguir um formato cônico progressivo a partir da entrada dos canais, até a constrição apical, permitindo

adequada limpeza e desinfecção, e uma obturação de qualidade, com a máxima preservação da morfologia original do canal.

A imagem anticurvatura foi preconizada por Abou-Rass, Frank e Glick, em 1980. Nesse mesmo ano, Marshall e Pappin idealizaram o preparo coroa/ápice sem pressão, alterando o conceito de preparo ápice/corona, o que foi fundamental para novas técnicas de tratamento, também preconizado por Machado, em 1983.

Os primeiros sistemas automatizados foram o Dynatrac, o qual acoplava limas de aço inoxidável, acionadas por meio de micromotor a ar, e os sistemas Giromatic (Micro Mega S.A., Besançon, França), M4 (Sybron/Kerr, EUA), porém, apresentavam altos riscos, como a fratura, sobreinstrumentação e arrombamento do forame (Clem, 1969).

Já os primeiros instrumentos endodônticos fabricados com a liga de NiTi foram estudados por Walia et al. (1988), os quais avaliaram suas propriedades físicas realizando testes de flexibilidade e resistência à torção. Eles concluíram que as limas de NiTi apresentaram duas a três vezes mais flexibilidade em comparação com as limas de aço inoxidável fabricadas pelo mesmo processo, além de uma superior resistência à fratura por torção. Os resultados sugeriram que as limas confeccionadas com NiTi poderiam ser promissoras para a instrumentação de canais curvos.

2.2 Ensaios envolvendo a performance do sistema rotatório Mtwo

A capacidade de limpeza e preparo dos sistemas Mtwo, K3 e Race foram comparadas por Schäfer et al. (2006). Utilizaram 60 molares inferiores e superiores curvos (entre 25° e 35°), os quais foram radiografados antes e após instrumentação. O preparo foi finalizado em 35.04 com o sistema Mtwo, 35.02 K3 e Race. As imagens foram analisadas e os espécimes foram submetidos à microscopia eletrônica de varredura (MEV) e magnificação de 20x e 2.500x. Observaram que não foi possível atingir a completa limpeza das paredes do canal radicular e os instrumentos Mtwo apresentaram os melhores resultados frente à limpeza e preservação da anatomia original.

Já ElAyouti et al. (2008) compararam a qualidade de preparo biomecânico através de dois sistemas rotatórios e limas manuais de níquel-titânio em canais achatados. Foram selecionados 90 dentes, os quais foram divididos em três grupos (Mtwo, ProTaper e limas manuais). Os espécimes foram seccionados a 0,5 mm entre o terço médio e apical (3,5 - 5 mm do ápice) e a 0,5 mm entre o terço coronal e médio (6,5 a 8 mm do vértice radiográfico), para então serem fotografados numa magnificação de 30x. Concluíram que instrumentos de grandes conicidades são incapazes de preparar completamente as paredes dos canais achatados e o ProTaper e o MTwo são mais eficientes que as limas manuais de NiTi.

Machado et al. (2010) compararam a desinfecção de canais radiculares contaminados por *Enterococcus faecalis* através de dois sistemas rotatórios. Foram selecionados 28 canais disto-vestibulares de molares superiores. Eles foram instrumentados até uma lima tipo K #20 a 1 mm além do forame apical e contaminados por cultura de *Enterococcus faecalis*. Os grupos foram divididos e o preparo mecânico realizado com o sistema ProTaper até a lima F2 e MTwo até 30.05. As amostras foram coletadas com o auxílio de três pontas #20 de papel absorvente estéril, nos quais permaneceram 10 segundos cada. Elas foram processadas para a contagem e cálculo de unidades formadoras de colônia. Concluíram que ambos os sistemas reduziram significativamente a carga microbiana.

A eficácia da limpeza e modelamento de canais curvos através do Mtwo, Reciproc, ProTaper e Wave one foram analisados por Bürklein et al. (2011). Selecionaram 80 dentes, com curvatura de 25° a 39°, que foram divididos em quatro grupos, sendo o preparo apical finalizado com a lima de diâmetro 25 para Reciproc e Wave one, e 35 Mtwo e F3 ProTaper. O Reciproc foi o mais rápido e apresentou diferença estatística significativa frente ao Wave One. Todos os sistemas mantiveram a curvatura original do canal radicular. O Mtwo e Reciproc apresentaram os melhores resultados frente à limpeza do canal radicular no terço apical.

2.3 Estudos com o sistema oscilatório TiLOS

A instrumentação oscilatória, que emprega limas de aço inoxidável movidas a motor, é conhecida desde a década de 60, com o sistema Giromatic (Hennicke, 1966). Utilizavam instrumentos tipo K, adaptados a uma peça de mão que oscilava 90°. Porém, os instrumentos com diâmetro maior que 0,20mm oferecem risco de criar degraus, deformações, desvios e até de fraturarem-se (Frank, 1967). O precursor do TiLOS foi o Endo-Eze, constituído por três instrumentos de aço inoxidável, com diâmetros e conicidades respectivamente de 0,10mm – 0,025 mm/mm, 0,13 mm – 0,045 mm/mm e 0,13 mm – 0,06mm/mm, os quais são acoplados a um contra-ângulo que oscila 30° (Leonardo; Leonardo, 2009).

Riitano (2005), ilustrou os conceitos básicos e o procedimento operatório do AET (*Anatomic Endodontic Technology*). O procedimento é dividido em três partes: acesso coronal, preparo do terço cervical e médio e preparo do terço apical. No preparo do terço médio, enfatiza o uso de quatro limas de aço inoxidável acionadas a peça de mão oscilatória, realizando um movimento de “limagem” contra as paredes do canal radicular. Para o preparo do terço apical, recomenda o uso de limas manuais de aço inoxidável e de NiTi. Conclui que o uso do AET completa a exploração do canal radicular, bem como remove todas as interferências da morfologia do canal radicular.

A limpeza das paredes de canais curvos utilizando o sistema oscilatório TiLOS, rotatório ProTaper e instrumentação manual foram avaliadas por Zmener et al. (2011). Trinta canais mesiovestibulares de molares inferiores, apresentando 20 a 30° de curvatura foram estandardizados em 17 mm e o comprimento de trabalho estabelecido a 1 mm do forame apical. O preparo foi finalizado com lima NiTi #30 no grupo TiLOS, F3 no grupo ProTaper e Flexofile #30 (Dentsply/Maillefer) no grupo manual. Os canais foram irrigados por 2 mL de NaOCl a 5,25%, seguido por 2 mL de EDTA e 3 mL de água destilada a cada troca de instrumento. As amostras foram preparadas para a análise por microscopia eletrônica numa magnificação de 400x e 1000x. As imagens foram analisadas a 1, 5 e 10 mm do comprimento de trabalho. Concluíram que os grupos mecanizados, em associação à irrigação por NaOCl e EDTA, apresentaram uma limpeza das paredes do canal radicular superior à

instrumentação manual, porém, a limpeza completa das paredes do canal radicular não foi atingida.

2.4 Sistema *Self-Adjusting File* (SAF)

Os estudos deste item realizaram uma introdução e também demonstraram resultados do sistema SAF.

Metzger et al. (2010) introduziram e apresentaram as características do sistema *Self-adjusting file* (SAF), como o seu *design*, sistema de irrigação, modo operacional, objetivos do sistema, eficácia na remoção de dentina, segurança do instrumento, flexibilidade e a sua durabilidade, representando uma nova abordagem para o preparo do canal radicular.

Hof et al. (2010) investigaram as propriedades mecânicas do *Self-adjusting file*. Os testes avaliados foram: força que o instrumento gera ao ser submetido à compressão, rugosidade da superfície, abrasividade, durabilidade ao torque, durabilidade à fadiga cíclica, durabilidade até a fadiga funcional, degradação em função ao tempo de trabalho e irrigação. Concluíram que a lima SAF pode ser elasticamente comprimida do diâmetro de 1.5 mm ao diâmetro de uma lima tipo K #20. A compressão da SAF gera força circunferencial. Sua superfície abrasiva, em combinação com o seu movimento de vibração, permite remoção de dentina. Sua força circunferencial e a sua habilidade de remover dentina diminui à medida que o canal é alargado, sendo que esse fato também ocorre com a reutilização da lima e o seu sistema de irrigação não extravasa a substância química pelo forame apical.

A capacidade de limpeza das paredes do canal radicular, ao utilizar o SAF, foram examinadas por Metzger et al. (2010). Utilizaram 20 canais unirradiculares, os quais foram preparados até uma lima tipo K #20 para, então, ser empregado o SAF, sob irrigação contínua por hipoclorito de sódio a 3% e EDTA 17%, alterando a substância química auxiliar a cada minuto. As amostras foram seccionadas longitudinalmente e submetidas à análise de microscopia eletrônica a uma magnificação de 200x e 1000x. Concluiu-se que o SAF, associado ao sistema de irrigação, resulta em limpeza das paredes do canal radicular em todos os terços.

Siqueira Jr. et al. (2010) avaliaram a habilidade do preparo biomecânico com o sistema rotatório BioRace (FKG Dentaire, La Chaux-de-Fonds, Suíça) e *self-adjusting file* (SAF) na desinfecção de canais achatados. Foram selecionados 44 dentes unirradiculares (incisivos inferiores e segundo prés-molares superiores). Os dentes foram instrumentados até uma lima tipo K #25 sendo irrigados com água corrente e o magma dentinário foi removido pelo EDTA a 17% por três minutos. Os dentes foram contaminados por *Enterococcus faecalis* por trinta dias. Foram realizadas três coletas (S1, S2a e S2b), sendo as coletas realizadas antes e após o preparo (S1 e S2a) e a coleta S2b realizada após a limagem com uma lima tipo K #20 pré-curvada. Para as coletas, foram utilizadas 3 a 5 pontas de papel absorvente, permanecendo no comprimento real de trabalho por 1 minuto cada. Essas pontas foram processadas e, então, realizada a contagem de UFC. Concluíram que o sistema SAF foi mais eficiente que o sistema rotatório na eliminação de *E. faecalis*.

Alves et al. (2011) estudaram o tempo através do preparo com o SAF e duas concentrações de NaOCl na redução de *Enterococcus faecalis* em canais achatados. Realizaram o preparo até a lima tipo K # 25 em vinte e cinco canais achatados. A limpeza das paredes dos canais foram realizadas através da irrigação com EDTA e NaOCl a 2,5%. *E. faecalis* foram semeados por 30 dias. Os canais foram instrumentados com o SAF e NaOCl a 2,5% e 6% num fluxo de 5 mL/min durante dois minutos, seguido por mais dois minutos repetindo o ciclo, sendo o volume total de irrigação 30 ml. As amostras foram coletadas após 2,4 e 6 minutos. Para a coleta final, fizeram o uso de uma lima tipo K #20 pré-curvada. Após processamento das coletas, realizaram a contagem de UFC. Concluíram que após 2 min, independentemente da concentração do NaOCl, reduziram abundantemente a carga microbiana e os melhores resultados foram obtidos após 6 min.

Paranjpe et al. (2012) compararam SAF e ProTaper na limpeza do canal radicular e ação antimicrobiana. Utilizaram 50 prés-molares inferiores unirradiculares. Realizaram a patência com a lima tipo K#10 e o preparo até a lima tipo K #20, sendo irrigado por 1 ml de hipoclorito de sódio a 6% a cada troca de instrumento. *Enterococcus faecalis* foram semeados por 30 dias e, através de pontas de papel absorvente, realizaram a primeira coleta. O grupo ProTaper foi instrumentado até a lima F3, sendo irrigado por 5 ml de NaOCl a 6% entre cada troca de instrumento, totalizando 20 ml de NaOCl durante quatro minutos. No grupo

SAF, o preparo foi realizado num período de 4 minutos, sendo o fluxo do irrigante ajustado a 5 ml/min. Após o preparo, nova coleta foi realizada através de pontas de papel absorvente e foi realizada uma limagem com a lima tipo K #20 para a coleta final. As amostras foram processadas para a contagem de carga microbiana. Para a análise por microscopia eletrônica, imagens foram obtidas a 1 e 3 mm do forame apical a magnificação de 200x , 1000x e 5000x. Demonstraram que os sistemas apresentaram ampla capacidade de redução microbiana e que o SAF não permite o controle do preparo apical, limitando a habilidade do irrigante em atingir uma desinfecção efetiva.

2.5 Pesquisas envolvendo a descontaminação do canal radicular

Sem et al. (1995) observaram a capacidade das bactérias de penetrarem em túbulos dentinários em dentes com infecção endodôntica. Dez dentes com infecção endodôntica foram extraídos e fixados por nove dias. Os espécimes foram clivados e examinados por MEV. Seus resultados demonstraram a penetração de bactérias nos túbulos dentinários de 10 a 150 microns.

Menezes et al. (2004) avaliaram a efetividade do NaOCl, clorexidina e cinco medicamentos intracanal. Noventa e seis dentes unirradiculares foram selecionados e instrumentados até a lima tipo K #25. Foram preenchidos por EDTA a 17% durante 3 min para a remoção de *smear layer*. Os canais foram contaminados por uma suspensão de *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis* e incubados por sete dias. Foram divididos em oito grupos: G1- solução fisiológica estéril (SFE) e hidróxido de cálcio; G2 - SFE e paramonoclorofenol canforado (PMCC); G3- SFE e tricresol formalina; G4 - SFE, hidróxido de cálcio e pasta de PMCC; G5 – SFE, paramonoclorofenol com furacin; G6- NaOCl a 2,5% sem medicação intracanal; G7 – clorexidina sem MIC; G8 – SFE sem MIC. Para *Candida albicans*, os grupos 3 e 8 foram significativamente menos efetivos que os grupos 1, 2, 4 e 5 e, para *E. faecalis*, os grupos 6 e 8 foram menos efetivos que 1, 2, 3, 4 e 7, chegando à conclusão de que Ca(OH)_2 + pasta de PMCC foram os mais efetivos na eliminação dos dois micro-

organismos e a solução de clorexidina a 2% foi mais efetiva que o NaOCl a 2,5% na eliminação de *Enterococcus faecalis*.

A ação antimicrobiana e o efeito residual da clorexidina gel 2% como irrigante foi comparado à clorexidina líquida e NaOCl a 5,25% por Dametto et al. (2005). Oitenta dentes unirradiculares foram instrumentados até a lima tipo K#25, sendo então irrigados por EDTA 17% e NaOCl. Seus ápices foram selados por resina epóxica. Os espécimes foram contaminados por *Enterococcus faecalis* por sete dias e divididos (n=20) de acordo com a substância química auxiliar utilizada. Eles foram instrumentados até a lima #35 tipo K a 1 mm do ápice e o canal irrigado por 1 mL do irrigante selecionado. Após o preparo biomecânico, os canais foram irrigados por 3 ml da substância química e, então, foi realizada a segunda coleta. Depois desse procedimento, os canais foram preenchidos por 40µL de BHI e incubados por sete dias, para, em seguida, ser realizada a terceira coleta. A clorexidina gel e líquida reduziram significativamente o *E. faecalis* pós-preparo e, depois de sete dias, já o NaOCl reduziu significativamente apenas após o preparo biomecânico, concluindo que a clorexidina gel ou líquida são mais efetivos que o NaOCl após esses sete dias.

Sedley et al. (2005) investigaram a eficácia da irrigação sobre a redução bacteriana, avaliando a profundidade da agulha de irrigação. Concluíram que a irrigação com 6 ml de NaOCl a 5,25% obteve melhores resultados quando foi realizada a 1 mm em comparação a 5 mm do comprimento de trabalho e demonstraram, também, que, quanto maior volume, maior a descontaminação.

Vivacqua-Gomes et al. (2005) estudaram a presença de *E. faecalis* após o tratamento endodôntico realizado em sessão única ou múltiplas sessões. 45 pré-molares inferiores foram instrumentados até a lima tipo K #25. *E. faecalis* foram cultivados durante 60 dias, sendo trocado o caldo a cada dois dias. Após esse período, foi realizada a primeira coleta. Os canais foram instrumentados com o sistema GT, sendo o preparo apical finalizado em #35 e divididos aleatoriamente em 5 grupos: G1- sessão única e irrigação com clorexidina; G2- múltiplas sessões, Ca(OH)₂ por duas semanas e irrigação com clorexidina; G3- irrigação com clorexidina e obturação após 7 dias; G4 – irrigação com solução salina e obturação após 7 dias; G5 – irrigação com solução salina e obturação imediata. Através de brocas, removeram a medicação intracanal e a dentina do terço apical e cervical. Concluíram que, nem sessão única, nem múltiplas sessões eliminaram

completamente *E.faecalis* dos túbulos dentinários, não havendo diferença estatística significativa entre si. Após 60 dias, as bactérias mantiveram viáveis e na ausência de cimento obturador, sendo que os microrganismos tiveram alta taxa de crescimento.

A eliminação de *Enterococcus faecalis* em prés-molares inferiores seguido ou não de medicação intracanal à base de Ca(OH)_2 , através do preparo associado a CHX gel 2% *in vitro* foi avaliada por Gurgel-Filho et al. (2007). Após a coleta das amostras, foi realizada a contagem de UFC, tendo o grupo medicado com Ca(OH)_2 permitido um crescimento de pequeno número de colônias entre as sessões, porém, sem diferenças estatísticas significantes.

Manzur et al. (2007) investigaram a eficácia das medicações intracanaís na redução bacteriana em periodonties apicais crônica. Trinta canais foram instrumentados com o sistema K3, sendo finalizado o preparo com limas de NiTi #35 ou #40. Os canais foram irrigados por 1 mL de NaOCl a 1% a cada troca de instrumento. Eles foram aleatoriamente divididos em três grupos: Ca(OH)_2 , CHX e Ca(OH)_2 com CHX. As amostras foram coletadas antes e após o preparo e uma semana após a medicação. O crescimento bacteriano reduziu abundantemente entre a primeira e segunda coleta. Entre a segunda e terceira coleta, os três grupos não apresentaram diferença estatística significativa, concluindo-se que as medicações intracanaís utilizadas desempenham resultados similares.

Metzger et al. (2007) testaram a aplicação da luz ultravioleta como mecanismo complementar à desinfecção após o uso do hipoclorito de sódio. Canais unirradiculares foram seccionados e preparados até a lima F3 do sistema ProTaper, sendo ampliado até a lima manual #50 tipo K para, então, serem infectados com *Enterococcus faecalis* por 48 horas. Após esse período, o grupo controle foi irrigado por NaOCl a 6%, o grupo experimental por NaOCl acrescido por luz ultravioleta. Os canais foram obturados e após 14 dias foram desobturados e amostras foram coletadas novamente. Essas foram analisadas pela contagem de unidades formadoras de colônia. Concluíram que o NaOCl sozinho falhou na desinfecção de *E.faecalis*, no qual apresentou 53% de cultura positiva. A aplicação de 254 nm de luz ultravioleta após NaOCl apresentou 96% de cultura negativa e, depois da obturação do canal radicular, os resultados foram mantidos.

A atividade antimicrobiana da clorexidina gel a 2% e NaOCl em duas concentrações (1,5 e 5,25%) sobre *E. faecalis* com foram comparadas por Oliveira et

al. (2007). Utilizaram oitenta dentes unirradiculares. As coroas foram seccionadas e o tamanho padronizado em 15 mm. Os canais foram preparados até a lima tipo K #25, sendo o comprimento de trabalho 14 mm. Os espécimes foram submetidos a banhos ultrassônicos por 10 min de EDTA seguido por 10 min de 5,25% NaOCl. Os canais foram contaminados e incubados durante sete dias e divididos em três grupos com 20 espécimes cada um: Grupo 1 – CHX; Grupo 2 – 1,5% NaOCl; e Grupo 3 - 5,25% NaOCl. Utilizaram pontas de papel absorvente para a coleta inicial. Os canais foram instrumentados com o sistema ProFile até a 35.04, sendo irrigado por 3 mL da solução irrigadora determinada, para, então, realizar a segunda coleta. Posteriormente, os canais foram preenchidos por BHI, com o qual permaneceu por uma semana, para, em seguida, realizar a terceira coleta. As coletas foram processadas e analisadas pela contagem de UFC. A clorexidina gel e 5,25% de NaOCl reduziram significativamente a carga microbiana, tanto após o preparo, quanto depois de sete dias. Já 1,5% de NaOCl reduziu significativamente apenas posterior ao preparo. Concluíram que altas concentrações de NaOCl e clorexidina gel são melhores frente aos efeitos antimicrobianos.

O efeito da água ozonizada na eliminação de *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis* e endotoxinas foram avaliadas por Cardoso et al., 2008. Quarenta e oito dentes unirradiculares foram selecionados, sendo o tamanho padronizado em 14 mm. Os canais foram preparados até a lima tipo K #35. Os ápices foram selados por resina composta e as superfícies radiculares por duas camadas de adesivo *epóxi araldite*. Os espécimes foram contaminados e semeados durante 21 dias. Outros vinte e quatro espécimes foram inoculados por endotoxinas de *Escherichia colios*. Após a contaminação, foi realizada a primeira coleta com pontas de papel absorvente #35 e instrumentados até uma lima tipo K #80 para, então, realizar uma nova coleta. Os canais foram preenchidos por água ozonizada ou solução salina esterilizada, sendo incubados por mais sete dias. Depois desse período, fizeram uma nova coleta e realizaram a contagem de UFC. A água ozonizada reduziu significativamente o número de microrganismos após o preparo biomecânico, porém, esse número sofreu aumento após sete dias. Concluíram que a água ozonizada é eficaz na eliminação de *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*, entretanto, não possuem efeito residual, não conseguindo, também, neutralizar as endotoxinas.

Martinho e LeonarGomes (2008) quantificaram endotoxinas e bactérias cultiváveis em canais que apresentavam necrose e periodontite apical antes e após preparo químico-mecânico com 2,5% de NaOCl e a possível correlação entre as bactérias e endotoxinas e a presença de sintomatologia. Selecionaram 24 pacientes que apresentavam necrose e periodontite apical em dentes unirradiculares. Após abertura sob condições assépticas, foram introduzidos cinco cones de papel absorvente estéril, os quais permaneceram por um minuto cada, depois foram transportados para cultivo bacteriano e as endotoxinas congeladas (-20°C). Os canais foram preparados com o sistema GT, sendo irrigados por 5 mL de 2,5% NaOCl a cada troca de instrumento e realizada nova coleta. LPS e bactérias foram encontradas em 100% das amostras, sendo que um maior número de endotoxinas foi encontrado em casos sintomáticos. Seus resultados indicaram que o preparo químico-mecânico com NaOCl a 2,5% são efetivos contra bactérias e menos efetivos frente às endotoxinas.

O efeito antimicrobiano de canais radiculares instrumentados com o sistema rotatório ProTaper, sob irrigação de hipoclorito de sódio a 0,5%, 1% e 2,5%, foi avaliado por Câmara et al. (2009). Cinquenta prés-molares inferiores portadores de um único canal foram selecionados. Os canais foram contaminados por *C.albicans*, *P.aeruginosa*, *E.faecalis* e *S.aureus* e incubados a 37°C por 48 horas. As coletas foram realizadas antes do preparo biomecânico e após a instrumentação com cada lima do sistema ProTaper (S1 até a F3) através de pontas de papel absorvente. Concluíram que o NaOCl, independentemente da concentração e em combinação ao sistema rotatório ProTaper, foram efetivos na eliminação dos microrganismos.

Ozdemir et al. (2010) avaliaram a ação de EDTA e NaOCl sobre o biofilme de *Enterococcus faecalis* na dentina de canais de pacientes jovens e idosos. Selecionaram 80 dentes recém-extraídos unirradiculares, os quais foram divididos em dois grupos de acordo a idade do paciente. Os terços coronal e apical foram seccionados, resultando em 4 mm do terço médio. Os espécimes de cada grupo etário foram divididos em quatro subgrupos, sendo o grupo 1 - 10 minutos de EDTA 17% e 10 mL de NaOCl a 2,5%; grupo 2 – 10 min de EDTA 17%; grupo 3 – 10 min de NaOCl; e grupo 4 - solução salina. Para a coleta das amostras, foram utilizadas brocas *Gates-Glidden* número 3. As amostras foram processadas em triplicata para posterior contagem de UFC. Concluíram que a combinação de NaOCl e EDTA

reduziu significativamente o biofilme intracanal e o volume ou o tempo de contato da substância química auxiliar, em pacientes idosos, deve ser maior que em pacientes jovens para prevenir a reinfecção.

Alves et al. (2011) comparou a capacidade de diferentes abordagens para complementar o efeito antibacteriano pelo preparo biomecânico em canais achatados. Foram utilizados 54 dentes unirradiculares, os quais foram instrumentados até a lima tipo K #25. Seus forames apicais foram selados com resina epóxi e submetidos à esterilização, para, em seguida, serem contaminados e semeados com *E. faecalis* por 30 dias. Após o período de contaminação, foi realizada a coleta inicial. Os canais foram instrumentados com instrumentos BioRace até 40.04 utilizando NaOCl a 2,5% como irrigante e a segunda coleta foi concebida. No grupo da irrigação ultrassônica passiva (PUI) e clorexidina, os canais foram submetidos a PUI pela ativação do NaOCl seguido por uma irrigação final de solução de clorexidina a 0.2%. Já no grupo Hedström, os canais foram irrigados com NaOCl a 2,5% e agitados com essas limas de diâmetro #40. Para essa coleta, utilizou-se uma lima tipo K #20 sobre as paredes do canal para posterior introdução de pontas de papel absorvente. Concluíram que PUI seguido por irrigação com clorexidina reduziu significativamente a carga microbiana, demonstrando o benefício dessa associação em canais infectados.

Dornelles-Morgental et al. (2011) avaliaram o efeito antimicrobiano de soluções irrigadoras e suas combinações sobre *Enterococcus faecalis*. 110 canais unirradiculares tiveram suas coroas seccionadas e comprimento standardizado em 15 mm. A broca *Gates-Glidden* foi introduzida nos 3 mm iniciais e os canais instrumentados a 1 mm do comprimento total até a lima tipo K #35, sendo irrigados com solução salina. Os espécimes foram divididos de acordo ao irrigante selecionado, sendo GI: hipoclorito de sódio a 2,5%; GII: NaOCl a 2,5% + ácido cítrico a 10%; GIII: NaOCl a 2,5% + vinagre de maçã; GIV: vinagre de maçã; GV: solução de clorexidina a 2%; GVI: ácido peracético a 1%; e GVII solução salina. Os canais foram contaminados e semeados por *Enterococcus faecalis* durante 21 dias e realizada as coletas após o período de contaminação, depois do preparo até a lima #50 e após 7 dias finalizado o preparo. Todas as substâncias químicas utilizadas promoveram a redução de *E. faecalis* após instrumentação, porém, não eliminaram

completamente do sistema de canais radiculares, sendo que GI, GV e GVI tiveram menor contagem de carga microbiana em relação aos outros grupos.

Lima et al. (2012) avaliaram o efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio sobre *Enterococcus faecalis*. Cento e seis dentes unirradiculares foram seccionados em 15 mm. Eles foram preparados até a lima #50. A cada troca de lima, foram irrigados por 2 mL de NaOCl a 1%. Os espécimes foram contaminados por *E. faecalis* e incubados por 21 dias, sendo realizada a troca de meio a cada dois dias. Finalizado o período de contaminação, foi realizada a coleta inicial. Os espécimes foram divididos em oito grupos (n=12). Após o período da medicação intracanal selecionada, os canais foram novamente preparados para, então, realizar a segunda coleta. Os espécimes foram, posteriormente, preenchidos por solução salina e incubados por sete dias. Finalizado esse período, foi realizada a terceira coleta. Todos os medicamentos apresentaram redução de *E. faecalis*, contudo, após sete dias, todos tiveram um aumento significativo da carga microbiana, sendo a associação Calen/PMCC e Calen/Clorexidina apresentaram os menores valores de recontaminação. Concluíram que os medicamentos a base de Ca(OH)_2 são capazes de reduzir *E. faecalis* do sistema de canais radiculares.

2.6 Investigações da descontaminação do canal radicular através do preparo biomecânico

Já em 1964, Bender et al. demonstraram que a completa esterilização do sistema de canais radiculares é difícil de ser conseguida e que a instrumentação é a maneira mais efetiva para remover dentina contaminada do interior do canal radicular. O critério de sucesso pode estar relacionado à habilidade técnica individual, bem como a um bom diagnóstico, obturação do canal radicular e fatores sistêmicos do paciente (Bender et al., 1964). Com isso, os seguintes artigos avaliaram a influência do preparo do canal radicular na eliminação de bactérias, através da contagem de UFC.

Siqueira Jr et al. (1997) avaliaram a eficácia de cinco técnicas de instrumentação na limpeza do terço apical de canais curvos através do exame

histológico. Utilizaram 53 canais mesiais de molares inferiores recém-extraídos, com ângulo de curvatura entre 25° e 40°. Os canais foram divididos aleatoriamente em cinco grupos: manual aço inoxidável – escalonada; limas Ni-Ti e técnica escalonada; técnica ultrassônica; força balanceada; e Canal Master U. Os cinco milímetros apicais foram seccionados, processados e examinados à microscopia à luz. As cinco técnicas de instrumentação foram efetivas na remoção de tecido dos canais, não apresentando diferença estatística significativa entre si, porém, elas não atingiram a limpeza completa do sistema de canais radiculares.

Dalton et al. (1998) compararam a redução bacteriana intracanal em dentes preparados com instrumentação rotatória conicidade .04 com limas manuais de aço inoxidável através da técnica escalonada. Quarenta e oito pacientes com periodontite apical em primeiro e segundo molares inferiores ou prés-molares unirradiculares inferiores foram divididos em dois grupos: grupo 1 – ProFile .04; grupo 2 – manual. *Gates Glidden* 2 e 3 foram utilizadas no terço cervical e a odontometria através das limas tipo K #15 e #20. Realizaram a primeira coleta através de pontas de papel absorvente e, então, os canais foram instrumentados, sendo finalizados com os dois instrumentos posteriores ao que atingiu o comprimento de trabalho. As amostras foram coletadas após esses três instrumentos e processadas. Os dois grupos não apresentaram diferença estatística e uma maior redução bacteriana foi concebida após o preparo por instrumentos mais calibrosos, sendo que nenhuma técnica eliminou completamente as bactérias.

A redução bacteriana através do preparo mecânico do canal radicular foi estudada por Siqueira Jr et al. (1999). Trinta e cinco prés-molares inferiores unirradiculares foram instrumentados até a lima tipo K #20 a 1 mm do forame apical. Inocularam *Enterococcus faecalis* através de uma lima tipo K #15 e os canais divididos em três grupos: instrumentação manual com NiTi até a lima #40; rotatório GT com conicidades .10 e .12; e ProFile finalizando com a lima 5. As amostras foram coletadas antes, depois de cada lima e finalizado o preparo através de pontas de papel absorvente. Os resultados demonstraram uma grande redução da carga microbiana após o preparo, principalmente depois do último instrumento, no entanto, não foram suficientes para erradicar as bactérias do canal radicular. A instrumentação com NiTi #40 apresentou os melhores resultados.

Card et al. (2002) avaliaram o quanto o alargamento apical é efetivo na redução bacteriana. Selecionaram caninos, prés-molares e molares que apresentavam rarefação óssea periapical evidentes. Os canais foram explorados entre as limas tipo K #10 e #20 até 1 mm aquém do vértice radiográfico e, então, foi realizada a primeira coleta. Os canais foram instrumentados com ProFile .04 (segunda coleta) e o preparo final através do sistema LightSpeed (terceira coleta). Os canais foram medicados com hidróxido de cálcio para posterior obturação. Os resultados demonstraram não haver diferença estatística significativa após ProFile e o alargamento apical com LightSpeed.

A redução bacteriana através de instrumentos rotatórios de níquel e titânio com ou sem alargamento apical foram comparadas por Coldero et al. (2002). Selecionaram 45 raízes palatinas de molares, nas quais foi realizado patência com uma lima tipo K#10. O comprimento real de trabalho foi estabelecido a 1 mm aquém do forame apical e os canais foram contaminados com *Enterococcus faecalis*, os quais foram semeados a cada 3-4 dias durante duas semanas. Os espécimes foram divididos em dois grupos: grupo A (n=16) técnica coroa-ápice com alargamento apical iniciando com lima GT e finalizando com Profile 35.04; grupo B (n=16) técnica coroa-ápice com recuo progressivo. Foram irrigados por 10 mL de NaOCl a 4,4%. As coletas foram realizadas através de pontas de papel absorvente, permanecendo 30 segundos no interior do canal. Concluíram que as limas GT e Profile são efetivos na eliminação de *Enterococcus faecalis* no canal radicular, não havendo diferença estatística significativa entre os grupos A e B.

Pataky et al. (2002) compararam a eficácia antimicrobiana através de várias técnicas para o preparo do canal radicular. Utilizaram 40 prés-molares superiores extraídos por motivos ortodônticos, os quais foram auto-clavados e infectados por suspensão de 0,1mL de *E.faecalis* através de uma lima tipo K#15. Os dentes foram divididos aleatoriamente em 5 grupos: manual com lima K (K-file Colorinox, Dentsply-Maillefer), Nitiflex (File Nitiflex, Dentsply-Maillefer), K-reamer (K-reamer Colori-nox, Dentsply-Maillefer), controle positivo e controle negativo. As coletas foram realizadas antes e após o preparo. Todos os preparos reduziram a carga microbiana, não apresentando diferença estatística, porém, a ausência total de bactérias não foi alcançada.

Rollison et al. (2002) compararam a eficácia de remoção bacteriana avaliando a técnica e alargamento apical. 50 molares inferiores foram instrumentados até a lima #20 e infectados por *E.faecalis*. Os espécimes foram incubados por nove dias a 4°C. Realizaram a coleta através de uma ponta de papel absorvente, a qual foi transferida a um frasco de cintilação para determinar o nível das bactérias radiomarcadas. O grupo 1 foi instrumentado com ProFile, finalizando em 35.04, o grupo 2, através do Pow-R até 50.02. Depois, os canais foram instrumentados com uma lima H #40 no G1 e #55 G2 para, então, realizar a nova coleta. Os resultados sugerem que a instrumentação até a #50 são mais efetivos na descontaminação quando comparado ao alargamento apical até o diâmetro de uma lima #35.

A proposta do de Siqueira Jr et al. (2002) foi comparar a redução bacteriana através de duas técnicas de instrumentação e diferentes meios de irrigação. Cinquenta prés-molares unirradiculares inferiores foram instrumentados até a lima tipo K #20 e o limite de trabalho foi estabelecido no forame apical. Os dentes foram contaminados por *E. faecalis* através de uma lima tipo K 15 e incubados por 24 horas. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: NaOCl a 2,5%, NaOCl a 2,5% e ácido cítrico a 10%, 2,5% NaOCl e clorexidina gel, 0,85% de solução salina. Do grupo 1 ao 3, foram instrumentados com limas Nitiflex até a #40 e o grupo 4, através do sistema rotatório GT, sendo o preparo apical finalizado em conicidade .12 e irrigação com NaOCl a 2,5%. As coletas foram realizadas antes e após o preparo através de pontas de papel absorvente para posterior contagem de UFC. Todos os grupos apresentaram grande redução bacteriana, não apresentando diferença estatística entre si, demonstrando a importância do uso de uma irrigante antimicrobiano durante o preparo biomecânico.

McGurkin-Smith et al. (2005) determinaram a habilidade do sistema ProFile GT associado à irrigação por 5,25% NaOCl e 17% EDTA durante 30 min sobre a redução bacteriana, além do efeito do Ca(OH)_2 . Utilizaram apenas molares que apresentavam rarefação óssea periapical. Os canais foram instrumentados até as limas #15 e #20. Estes, juntamente com pontas de papel absorvente, constituíram a primeira coleta. Durante a instrumentação, o canal foi irrigado por 5,25% de NaOCl a cada troca de instrumento. Após o preparo, os canais foram irrigados por NaOCl durante 30 min, trocando a cada 5 min, para, então, ser realizada a segunda coleta. Depois desse procedimento, os espécimes foram medicados com Ca(OH)_2 por uma

semana e, em seguida, realizada a terceira coleta. Concluíram que o sistema GT reduz a carga microbiana, melhorando essa redução com o uso de Ca(OH)_2 . O preparo apical através de instrumentos mais calibrosos remove mais bactérias quando comparado aos de menor diâmetro.

Berber et al. (2006) avaliaram a eficácia do hipoclorito de sódio a 0,5%, 2,5% e 5,25% como solução irrigadora associada à instrumentação manual e rotatória frente à infecção de canais por *Enterococcus faecalis*. Foram selecionados 120 pré-molares inferiores unirradiculares, os quais foram instrumentados até a lima tipo K #20, para poderem ser contaminados por *Enterococcus faecalis* durante 21 dias. Os dentes foram divididos em 12 grupos, variando a concentração do irrigante técnica de preparo biomecânico. O forame apical foi alargado até uma lima tipo K #20 para a contaminação por *Enterococcus faecalis*. As coletas foram realizadas antes e após o preparo por meio de três pontas de papel absorvente. Além disso, os dentes foram seccionados em três terços e foi realizada a remoção de dentinas através de brocas diamantadas com diâmetros crescentes e as amostras foram coletadas e submetidas à contagem de unidades formadoras de colônia. Demonstraram que a ausência de bactérias após o preparo biomecânico não representa a sua ausência em túbulos dentinários, independentemente da concentração da solução irrigadora utilizada. O NaOCl a 5,25% representou melhor efeito antibacteriano no interior dos túbulos dentinários.

O objetivo de Chuste-Guillot et al. (2006) foi comparar a desinfecção de canais através de três sistemas rotatórios: GT, HERO 642 e ProFile e técnica manual para o preparo do canal radicular. Sessenta e quatro canais unirradiculares foram selecionados e tiveram o seu comprimento de trabalho estabelecido em 14 mm, os quais foram contaminados por *Streptococcus sanguis* e semeados por sete dias. O preparo biomecânico (PBM) foi realizado seguindo a técnica do fabricante de cada grupo. Para cada canal, foram realizadas quatro coletas. Coleta S1 antes PBM, S2 após primeiro instrumento a chegar ao comprimento real de trabalho (CRT), S3 depois do último instrumento a atuar no CRT, S4 ao final do preparo e irrigação final com NaOCl e EDTA a 17% do canal radicular. Os canais foram irrigados por 0.2mL de NaOCl a 3,5% a cada troca de instrumento. As coletas foram realizadas através de quatro pontas de papel absorvente, as quais foram então processadas. Concluíram que os três sistemas rotatórios apresentaram resultados similares à

técnica manual frente à redução bacteriana e a instrumentação associada à irrigação por NaOCl reduziram significativamente a carga microbiana, porém, não foi possível a desinfecção completa do canal radicular.

Aydin et al. (2007) testaram a redução bacteriana através de uma instrumentação conservadora e mais agressiva. Utilizaram 20 prés-molares inferiores, os quais foram instrumentados até a lima #20 a 01 mm do vértice radiográfico. Os dentes foram contaminados por *E. faecalis* e cultivados por sete dias. Os espécimes foram divididos em dois grupos, sendo o grupo 1 com o sistema ProTaper até F3 e o grupo 2, com Hero Shaper até 30.04. As amostras foram coletadas antes e após o preparo, sendo o canal limado através de uma lima #15, para posterior coleta com pontas de papel absorvente. As duas técnicas reduziram a carga microbiana, não apresentando diferença estatística significativa entre si. Concluiu-se que uma técnica que remove mais dentina não demonstra ser mais eficiente que uma técnica mais conservadora.

A eficácia antimicrobiana entre a irrigação com pressão positiva tradicional e pressão negativa em canais preparados com e sem conicidade foram estudados por Hockett et al. (2008). 54 molares inferiores foram seccionados e *E. faecalis* foram semeados por 30 dias. Os dentes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: grupo 1 (LE): Lightspeed LSX sem conicidade e irrigação com o sistema EndoVac; grupo 2 (LT): LSX sem conicidade e irrigação tradicional; grupo 3 (PT): ProTaper - com irrigação tradicional; e grupo 4 (PE): ProTaper com EndoVac. Os grupos LE foram finalizados em #45.02, já PT em F3. Para a coleta inicial, uma lima tipo K #30 foi utilizada em conjunto a cones de papel absorvente. Após irrigação, foi realizada a segunda coleta. Apresentaram diferença estatística significativa a irrigação negativa, frente à positiva, fato que não ocorreu frente ao preparo apical, demonstrando que a irrigação com o sistema EndoVac apresenta melhor controle microbiano em relação aos sistemas de irrigação tradicionais.

Singla et al. (2010) avaliaram o efeito de várias técnicas de instrumentação na descontaminação e risco de fratura radicular. 50 prés-molares inferiores, portadores de um único canal, foram instrumentados até uma lima tipo K#20 e contaminados por *Enterococcus faecalis* por 72 horas e divididos em cinco grupos. Grupo 1 - técnica manual, sendo o preparo apical #40 com recuo até #70; grupo 2 – Profile até 40.04; grupo 3 –Profile até 40.06; grupo 4 – ProTaper F4; grupo 5 – controle. Os

canais foram preparados de acordo com a técnica do fabricante de cada sistema. As coletas foram realizadas através de pontas de papel absorvente. Após processamento, foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônia. Concluíram que o sistema Profile 0.6 e ProTaper F4 apresentaram a melhor capacidade de limpeza e não apresentaram redução significativa da resistência à fratura radicular.

2.7 Estudos sobre *Enterococcus faecalis*

Love (2001) identificou o possível mecanismo de como os *Enterococcus faecalis* sobrevivem, crescem em túbulos dentinários e causam a reinfecção em canal obturado. Ele demonstrou que o fator de virulência do *E. faecalis* deve-se à capacidade de invadir túbulos dentinários e de aderir-se ao colágeno.

Sedley et al. (2005) testaram se os *Enterococcus faecalis* podem sobreviver por longos períodos sem nutrição adicional. Cento e cinquenta canais unirradiculares extraídos foram instrumentados até a lima #60 e divididos em seis grupos com vinte e cinco espécimes, sendo que a diferença dos grupos baseou-se na concentração da contaminação de *E. faecalis* e do grupo 3 ao 6 nos canais que não foram obturados. Após 6 e 12 meses, os espécimes foram fragmentados e analisados por métodos de cultura, PCR e histológicos. Encontraram *E. faecalis* viáveis de 95 a 100% dos espécimes não obturados. Concluiu-se que *E. faecalis* podem permanecer viáveis por 12 meses em estudos *ex vivo*.

A presença de microrganismos foi determinada por Schirrmeister et al. (2007) através da cultura e PCR em dentes assintomáticos com rarefação óssea periapical. Utilizaram regimes de desinfecção com NaOCL, EDTA, CHX e Ca(OH)₂. Encontraram a prevalência de 60% de microrganismos pela cultura e 65% por PCR. Em 31% das amostras, foram encontradas *E. faecalis*, demonstrando a frequente presença dessa bactéria em casos de insucesso da terapia endodôntica. Concluíram que o preparo biomecânico é suficiente para a descontaminação de canais radiculares em casos de retratamento.

O pH, teor de cloro disponível, a atividade antimicrobiana dos irrigantes e suas combinações foram estudados frente ao contato direto sobre *E.faecalis* por Guerreiro-Tanomaru et al. (2011). Concluíram que o NaOCl com soluções ácidas baixaram o pH e o teor de cloro, mas não alteraram seu efeito antimicrobiano.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo tem como objetivo avaliar comparativamente a efetividade de diferentes sistemas para o preparo biomecânico: Mtwo, TiLOS *Anatomic Endodontic Technology System* (TiLOS) e *Self-adjusting file* (SAF) sobre a redução quantitativa de colônias bacterianas de *Enterococcus faecalis* dos canais radiculares de pré-molares inferiores extraídos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

- 43 prés-molares inferiores, doados pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia de Araraquara;
- Água destilada esterilizada;
- Algodão (SSplus, São Paulo/SP);
- Água peptonada;
- Agulha para irrigação, Navi tips (*Ultradent Products Inc., USA*);
- Autoclave (Fabre Primar industrial Ltda., São Paulo – SP, Brasil);
- Biostat 5.0 Software estatístico;
- Bomba a vácuo (Dabi-Atlante, Ribeirão Preto – SP, Brasil);
- Brocas *Gates-Gliden* números: 1,2 e 3 (*Dentsply/Maillefer –Suíça*);
- Câmara escura (*Newdent*, Ribeirão Preto/SP);
- Câmula aspiradora *White Mac* (*Ultradent Products Inc., USA*);
- Cola *Epóxi Araldite* (Brascola Ltda., Joinville – SC, Brasil);
- Caldo TSB – *Tryptic Soy Broth* (Difco- USA);
- Contra-ângulo Endo-Eze (*Ultradent Products Inc., USA*);
- Cones de papel absorvente, número 30, *cell pack* (*Dentsply/Maillefer-Petrópolis- RJ, Brasil*);
- EDTA 17% (Fórmula & Ação, São Paulo- SP, Brasil);
- *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) (*American Type Culture Collection*);
- *Eppendorf* - frascos 1,5mL (*Elkay Products Inc., Shrewsbury – MA, USA*);
- Espectrofotômetro (Modelo 600 Plus, Femto, São Paulo, SP, Brasil);
- Estufa para cultura bacteriológica – mod 216 (fabre Primar industrial Ltda., SP- Brasil);
- Explorador de ponta reta (SSWhite, Rio de Janeiro – RJ, Brasil);
- Filmes radiográficos periapicais (Kodak E-Speed, São Paulo/SP);
- Gabinete de fluxo laminar (Veco, Campinas, SP, Brasil);

- Gaze estéril (Cremer – Blumenau, SC, Brasil);
- Hipoclorito de Sódio 2,5% (Fórmula & Ação, São Paulo- SP, Brasil);
- Isomet 1000 (*Buelher Ltda., Lake Bluff, IL, EUA*);
- Limas tipo K # 15 - 30 (*Dentsply/maillifer – Suíça*);
- Limas tipo K # 08 e 10 (*Dentsply/maillifer – Suíça*);
- Limas sistema TiLOS (*Ultradent Products Inc., USA*);
- Limas sistema SAF (*ReDent-Nova, Ra'anana -Israel*);
- Jarra de anaerobiose (Modelo 502, Fanem, São Paulo, SP, Brasil);
- Meio de cultura Agarm *Enterococcus* (Difco – USA);
- Micromotor, contra-ângulo de baixa rotação (Kavo, Joinville – SC, Brasil);
- Micropipetas mod. *Finnpipette* 5- 40µL, 40- 200µL, 200- 400µL (*Labsystems, Helsinki, Finlândia*);
- Microplacas de cultura com 24 poços (*Corning Incorporated, Corning, NY, EUA*);
- Microponteiros mod. Gilson amarela 200 10- 200µL, Gilson azul 1000 200- 1000µL (*Greiner Bio-One – Americana – SP, Brasil*);
- Motor Elétrico Multicler – Dentscler (Ribeirão Preto, SP, Brasil);
- Motor rotatório EndoMate DT (NSK, Kanuma, Japão);
- Motor SAF (*ReDent-Nova, Ra'anana -Israel*);
- Mtwo, 5 quites (*VDW, Munique – Alemanha*);
- Palito de dente (Gina, Nova Ponte, MG, Brasil);
- Papel toalha (Melhoramentos Papéis, Caieiras - SP, Brasil);
- Pinça clínica (SSWhite, Rio de Janeiro – RJ, Brasil);
- Pincel (Faber-Castell, Ohio/USA);
- Régua milimetrada para odontometria (*Dentsply/Maillerfer- Suíça*);
- Resina acrílica (Clássicos Artigos Odontológicos, São Paulo, SP, Brasil);
- Revelador e fixador de filmes radiográficos (Kodak, São Paulo/SP);
- Seringa de insulina (Becton Dickinson, Curitiba, PR, Brasil);
- Seringa descartável – 5 mL para irrigação (*Ultradent Products Inc., USA*);
- Vórtex (*Vortex AP 56, Phoenix, Araraquara, SP, Brasil*).

4.2 MÉTODOS

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOAr, sob o protocolo nº 24/11 (anexo A), não apresentando oposição pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP (anexo B).

4.2.1 Seleção dos dentes

Um total de 47 dentes (prés-molares inferiores) foi requisitado ao Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia de Araraquara após a apreciação deste projeto ao CEP- FOAr.

Os dentes foram avaliados clinicamente e radiografados no sentido mesiodistal e vestibulolingual para a constatação da presença de apenas um canal radicular, rizogênese completa, ausência de tratamento endodôntico prévio, calcificações, reabsorção interna, reabsorção externa ou outras alterações anatomopatológicas.

4.2.2 Preparo dos dentes

Os dentes selecionados foram acondicionados em potes de vidro com solução salina 0,9%, onde permaneceram por um período de sete dias para promover hidratação (Imparato et al., 2003).

Ao término do período de hidratação, as coroas e raízes foram seccionadas transversalmente através da *isomet*. As coroas amputadas foram devolvidas ao Banco de Dentes Humanos da FOAr, com a finalidade de serem utilizadas em outros estudos.

O tamanho dos espécimes foram padronizados em 15 mm e os canais radiculares foram explorados, inicialmente, com as limas tipo K #10 e #15 (Dentsply

Maillefer, Baillagues, Suíça). Foram apenas utilizadas as raízes por meio das quais foi possível realizar a patência com essas limas, as que não possibilitaram realizar tal procedimento, foram devolvidas ao Banco de Dentes e substituídas por novas raízes até que o número total de espécimes (47) fosse atingido.

Cada espécime foi envolto em gaze e estabilizado entre as garras de uma morsa. Através da broca *Gates Glidden* #3 (Dentsply Maillefer, Baillagues, Suíça), foi realizado o preparo dos três milímetros cervicais dos canais radiculares. As raízes com diâmetros apicais superiores ao da lima K#20 (Dentsply Maillefer, Baillagues, Suíça) foram descartadas, sendo esta repassada no forame para padronização. A seguir, os canais foram instrumentados a 1 mm aquém do ápice radicular até uma lima flexofile #30 (Dentsply Maillefer, Baillagues, Suíça), visando a facilitar a posterior inoculação de microrganismos. A irrigação foi realizada com 2 mL de solução fisiológica a cada troca de instrumento. Os canais radiculares foram irrigados por 5 mL de EDTA a 17% (Fórmula e Ação Laboratórios de Manipulação, São Paulo, SP, Brasil) durante 3 minutos, finalizando com mais 5 mL de solução fisiológica.

Posteriormente, os canais foram secos com cones de papel absorvente (Dentsply Maillefer, Baillagues, Suíça) e foi realizado o vedamento da região apical das raízes, utilizando-se resina composta fotopolimerizável Z 100 (3M, Dental Products, St. Paul, MN, USA). As superfícies radiculares foram impermeabilizadas externamente com duas camadas de adesivo *epóxi Araldite* (Brascola Ltda, Taboão da Serra, SP, Brasil), exceto a região da abertura cervical (Figura 4.1).

Figura 4.1 - Vedamento apical e impermeabilização das raízes

Os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em quatro microplacas de cultura celular de 24 poços (*Corning Incorporated, Corning, NY, EUA*), sendo três delas com 14 dentes em cada e uma microplaca controle com 5 dentes, fixados nos poços externos com resina acrílica quimicamente ativada (Clássicos Artigos Odontológicos, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 4.2).

Figura 4.2- Microplaca de cultura celular de 24 poços

Essas microplacas foram tampadas, embaladas e submetidas à esterilização em Óxido Etileno (Aceccil, Campinas, SP, Brasil).

4.2.3 Contaminação dos espécimes

Os procedimentos microbiológicos foram realizados em ambiente asséptico, dentro de câmara de fluxo laminar (VecoFlow Ltda, Campinas, SP, Brasil). Culturas puras de *E.faecalis* (ATCC 29212) foram reativadas em *Tryptic Soy Broth* - TSb (Difco, Detroit, MI, EUA) por 48 horas. As bactérias foram inoculadas em placas de *Tryptic Soy Agar* - TSa (Difco, Detroit, MI, EUA) e incubadas em jarra de anaerobiose em estufa (Modelo 502, Fanem, São Paulo, SP, Brasil) a 37°C por outras 48 horas. Uma suspensão bacteriana foi preparada em solução fisiológica

esterilizada, com concentração equivalente a $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia (UFC) por mL. O ajuste da densidade óptica da suspensão foi feita em espectrofotômetro (Modelo 600 Plus, Femto, São Paulo, SP, Brasil), com comprimento de onda de 600 nm.

O meio de cultura (TSb) foi misturado com a suspensão bacteriana na proporção de 1:1 em volume e os canais radiculares foram contaminados, por meio de micropipetas, com 20 μ L dessa mistura. Uma mecha de algodão esterilizada foi umedecida em TSb e colocada na entrada de cada canal. Os poços vazios do centro das microplacas foram preenchidos com água destilada esterilizada para manter a sua umidade.

As placas contendo os espécimes foram seladas com fita adesiva e mantidas em ambiente microaerófilo, permanecendo em estufa a 37°C. O período de contaminação foi de 21 dias, sendo adicionado o meio de cultura (TSb) esterilizado no interior dos canais radiculares a cada dois dias, utilizando seringa de insulina de 0,5 mL (Becton Dickinson, Curitiba, PR, Brasil) (figura 4.3).

Figura 4.3 - Troca de meio de cultura a cada dois dias

4.2.4 Coleta de confirmação da contaminação

Após esse período, foi realizada a coleta de todas as amostras para a confirmação da contaminação dos canais radiculares (Coleta 1). Foram utilizados três cones de papel absorvente esterilizados #30 (Dentsply Maillefer, Baillagues,

Suíça), os quais permaneceram mantidos nos canais radiculares por 1 minuto cada e foram transferidos para tubos teste (*Eppendorf*) contendo 1 mL de solução fisiológica esterilizada (figura 4.4). Os tubos foram agitados por 30 segundos (Vortex AP 56, Phoenix, Araraquara, SP, Brasil). A seguir, foram realizadas diluições decimais seriadas (figura 4.5) e alíquotas de 20 μ L foram semeadas em triplicata em placas de Petri contendo meio m- *Enterococcus* (figura 4.6). As placas foram incubadas em microaerofilia a 37°C por 48 horas e o crescimento bacteriano foi determinado pela contagem do número de UFC/mL de *E. faecalis* (figura 4.7).

Figura 4.4 -Transferência do cone de papel absorvente ao tubo teste (*ppendorf*) para diluições

Figura 4.5 - Diluição seriada

Figura 4.6 - Alíquotas de 20 µL semeadas em triplicata em placas de Petri

Figura 4.7 - Contagem do número de UFC/mL de *E. faecalis*

4.2.5 Divisão dos grupos experimentais

As microplacas contendo as raízes foram aleatoriamente divididas de acordo com a cinemática a ser realizada em 3 grupos experimentais (n=14) e um grupo controle (n=5).

- GI- *Self-adjusting file* -SAF - (*ReDent-Nova, Ra'anana*, Israel) (n=14)

- GII- Sistema oscilatório Endo-Eze TiLOS *Anatomic Endodontic Technology* (AET) (*Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, EUA*); (n=14)
- GIII- Sistema rotatório Mtwo (VDW, Munique, Alemanha) (n=14)
- GIV- Sem preparo mecânico (grupo controle) (n=5)

4.2.6 Preparo biomecânico dos espécimes

GI: *Self-Adjusting File* (SAF) (figura 4.8)

Primeiramente, foi realizada uma instrumentação com a lima manual Flexofile #30. Os canais foram preparados pelo sistema SAF, utilizando a lima de 2mm de diâmetro. Foi feito um movimento vibratório de “vai-e-vem” através da peça de mão (GENTLE; Kavo, Bieberach a.d. Riß, Alemanha), realizando de 3000 a 5000 vibrações por minuto a uma amplitude de 0,4mm. Os canais foram submetidos a dois ciclos de dois minutos, com irrigação contínua de 2,5% NaOCl, sendo o seu sistema de irrigação (VATEA ReDent-Nova) ajustado num volume de 10 mL/min, totalizando 40 mL por canal.

Figura 4.8 - Sistema SAF

Esse sistema é composto apenas por uma lima e de uso único. Ela é fabricada a partir da liga de níquel e titânio, apresenta particularidades que a difere das limas dos sistemas rotatórios, principalmente no “*design*”, modo operacional, sistema de irrigação e na cinemática do preparo do canal radicular.

Ela é uma lima oca, como um cilindro pontiagudo e é constituída de hastes finas de níquel e titânio com espessura de 120 μm , sendo sua superfície levemente abrasiva (figura 4.9).

Figura 4. 9 - Detalhe da lima SAF

GII: Grupo oscilatório TiLOS (figura 4.10)

A lima oscilatória (ponta .13 mm e conicidade 0.03 mm/mm) foi inicialmente utilizada. Seguido por duas limas de NiTi transicionais oscilatórias com diâmetro de ponta #25 e conicidade 0,08 e 0,04 mm/mm, respectivamente, acoplados ao contra-ângulo Endo-Eze (figura 4.11) até encontrar resistência, realizando um movimento de “limagem” contra as paredes do canal. Já o preparo apical foi iniciado com lima manual NiTi #35.02 e finalizado em # 45.02. Para padronizar o volume da solução irrigadora ao grupo I, os canais foram irrigados com 7 mL de NaOCl a 2,5% a cada troca de lima e, após a última (45.02), por 5 mL dessa solução, totalizando 40 mL. A irrigação foi realizada através de agulhas NaviTips (*Ultradent, South Jordan, UT*) a 3 mm aquém do comprimento de trabalho.

Figura 4.10 - Sistema TiLOS

Figura 4. 11 - Contra-ângulo Endo-Eze

GIII: Rotatório Mtwo (figura 4.12)

Os instrumentos rotatórios Mtwo possuem secção transversal em forma de S, ponta inativa, sendo caracterizados por duas arestas de corte positivas, que foram desenhadas para oferecer um corte eficaz da dentina. A distância entre as lâminas de corte aumenta da ponta do instrumento ao seu cabo, com o objetivo de eliminar a ação de “rosqueamento” do instrumento em rotação contínua e, também, para reduzir o transporte de debris para o ápice (Schäfer et al., 2006).

Foi realizado de acordo com o fabricante, seguindo a sequência 10/.04, 15/.05, 20/.06, 25/.06, 30/.05, 35/.04, 40/.04, 45/.04 e 25/.07, padronizando o diâmetro de ponta #45 ao grupo II. A cada troca de lima dos seis primeiros instrumentos, os canais foram irrigados por 4 mL de 2,5% de NaOCl, 5 mL após as duas limas posteriores e 6 mL depois da última lima (25/.07), totalizando 40mL por canal.

Todos os canais foram preparados pelo mesmo operador, o qual foi previamente treinado para cada sistema.

A primeira lima do sistema Mtwo a ser utilizada foi a 10.04, uma vez que, desde essa lima, o movimento realizado foi o de “pincelamento” sobre as paredes do canal radicular.

Após a instrumentação, os canais foram irrigados por 1 mL de tiosulfato de sódio a 10%, a fim de neutralizar o NaOCl, não interferindo com os resultados da segunda coleta.

Figura 4.12 - Preparo através do sistema Mtwo

4.2.7 Coletas e análise microbiológica

As coletas foram executadas após o preenchimento dos canais radiculares com solução salina esterilizada. Para tanto, foram utilizados três cones de papel absorvente de diâmetro #45 (Dentsply Maillefer, Baillagues, Suíça), os quais permaneceram no interior do canal por 1 minuto (Coleta 2). Eles foram transferidos para tubos tipo *Eppendorf* contendo 1 mL de solução salina esterilizada e agitados por 30 segundos (Vortex AP 56, Phoenix, Araraquara, SP, Brasil).

Em seguida, foram realizadas diluições decimais seriadas e 20 µL da solução de cada tubo, os quais foram semeados em triplicata, em placas contendo *m-Enterococcus*, que foram incubadas em microaerofilia em estufa a 37°C e umidade relativa.

Após sete dias, a terceira coleta microbiológica foi realizada seguindo os mesmos procedimentos da anterior. As coletas do grupo controle ocorreram após o período de contaminação (primeira amostra) e depois de sete dias.

5 RESULTADOS

As coletas inicial, pós-preparo e final estão representadas no gráfico 6.1. Letras sobrescritas diferentes (^{a,b}) indicam diferença estatística significativa ($P < .05$). *UFC*, unidades formadoras de colônias.

Gráfico 6.1- Comparação entre os grupos no momento inicial, pós-preparo e final (média e desvio padrão de UFC/mL log)

Os resultados obtidos da coleta inicial, pós-preparo e final (uma semana depois do preparo químico-mecânico) foram submetidos à análise estatística pela ANOVA e *Tukey* ou *Kruskal-Wallis* e *Dunn tests*. O nível de significância foi $P < .05$.

Os valores originais da descontaminação do canal encontram-se nos apêndices A, B, C e D, respectivamente. As médias e os desvios-padrão estão apresentados na tabela 5.1 e ilustrados nos gráficos 6.2, 6.3 e 6.4.

A análise dos resultados demonstrou que, na contaminação dos espécimes (inicial), os três grupos (SAF, Tilos e Mtwo) não apresentaram diferença estatística

significante entre si ($P > .05$) (gráfico 6.2). Após o preparo biomecânico (pós-preparo), resultaram numa redução bacteriana quantitativa de *E.faecalis* ($P < .05$), porém, entre eles, não apresentaram diferença estatística significativa ($P > .05$) (gráfico 6.3). Na coleta final (após sete dias), observou-se um aumento considerável da contagem das Unidades Formadoras de Colônias, quando comparada à coleta pós-preparo biomecânico ($P < .05$), e não apresentou diferença ($P > .05$) ao defrontar frente à coleta inicial. Nesta última coleta, os três grupos novamente não apresentaram diferença estatística significativa entre si ($P > .05$) (gráfico 6.4).

Tabela 5.1 - Comparação entre os grupos no momento inicial, pós-preparo e final (média e desvio padrão de UFC/mL log)

Grupo	Inicial	Pós-Preparo	Final
SAF	7.063 (± 0.35) ^a	0.9943 (± 2.02) ^b	6.574 (± 0.74) ^a
Tilos	7.338 (± 0.43) ^a	0.00 (± 0.00) ^b	6.722 (± 1.04) ^a
Mtwo	7.447 (± 0.43) ^a	0.00 (± 0.00) ^b	6.973 (± 0.67) ^a

Letras sobrescritas diferentes (^{a,b}) indicam diferença estatística significativa ($P < .05$). UFC, unidades formadoras de colônias.

Gráfico 6.2- Representação gráfica da comparação da contaminação pelo Tukey's test.

Gráfico 6.3- Demonstração da coleta pós-preparo pelo *Kruskal-Wallis test*

Gráfico 6.4 - Representação gráfica após sete dias através do *Tukey's test*

6 DISCUSSÃO

O preparo biomecânico do canal radicular está intimamente ligado ao sucesso da terapia endodôntica. A filosofia de alargar, promovendo o corte de tecido mineral contaminado, persiste desde a invenção do primeiro instrumento, Maynard, 1838. Com o aumento da ciência e tecnologia dessa especialidade, ideias evoluíram e sedimentaram-se, desde as características do próprio instrumento até cinemáticas de preparo, visualizando um tratamento endodôntico mais seguro e eficaz.

Temas como padronização (Ingle, 1958, 1961), características e propriedades das ligas dos instrumentos (Craig; Peyton, 1963) e outros adventos importantes como a introdução do preparo mecanizado (Hennicke, 1966), preparo escalonado com recuo progressivo (Clem, 1969), conceito de “*cleaning and shapping*” (Schilder, 1974), desgaste anticurvatura (Abou-Rass et al. 1980), preparo no sentido coroa-ápice (Marshall; Pappin, 1980; Machado et al., 1982; Machado et al., 1984), instrumentos fabricados com a liga de NiTi (Walia et al., 1988) e demais itens, demonstram a intimidade entre instrumentos, técnicas e substâncias químicas auxiliares, na busca da desinfecção do canal radicular (Bender et al., 1964 ; Machado et al., 2010; Alves et al., 2011).

Outro critério fundamental muito abordado na terapia endodôntica contemporânea é o uso de mecanismos que diminuam o tempo clínico dos procedimentos endodônticos e que torne mais fácil e segura a técnica para o preparo do canal radicular, bem como ofereça maior porcentagem de sucesso do tratamento (Leonardo, 2005; Machado, 2007; Leonardo; Leonardo, 2009).

Todavia, um grande desafio no preparo do canal é fazer com que o instrumento atue fisicamente em todo o sistema endodôntico. Dessa forma, ensaios devem ser realizados com a proposta de colaborar com o tema em questão. Nesse particular, a escolha dos instrumentos e protocolos no presente estudo está vinculada à confirmação de resultados relativos à eliminação de bactérias.

Os instrumentos rotatórios Mtwo promoveram redução da carga microbiana (Machado et al., 2010) concordando com os resultados do presente trabalho, bem como de limpeza do canal radicular (Schäfer et al., 2006, ElAyouti et al., 2008; Bürklein et al., 2011). Frente ao sistema oscilatório Tilos, podem ser visualizados

resultados favoráveis com relação à limpeza das paredes do canal (Zmener et al., 2011). O sistema Self-adjusting file (SAF) também apresentou bons resultados na descontaminação do canal radicular (Siqueira Jr et al., 2010; Alves et al., 2011; Paranjpe et al., 2012).

Assim sendo, a redução de *E. faecalis* por esses três sistemas, SAF, TiLOS e Mtwo, tem como característica principal colaborar na interpretação de resultados vinculados à remoção de bactérias. Essas confirmações são necessárias para elucidar as virtudes e restrições dessas tecnologias para a clínica endodôntica.

Frente à metodologia empregada neste trabalho, destaca-se por ser amplamente utilizada para a avaliação da descontaminação do canal radicular (Menezes et al., 2004; Vivacqua-Gomes et al., 2005; Gurgel-Filho et al., 2007; Manzur et al., 2007; Metzger et al., 2007; Martinho; Gomes 2008; Camara et al., 2009; Ozdemir et al., 2010; Alves et al., 2011; Dornelles-Morgental et al., 2011; Lima et al., 2012), bem como para a análise do preparo mecânico (Siqueira Jr et al., 1997; Dalton et al., 1998; Siqueira Jr et al., 1999; Card et al., 2002; Coldero et al., 2002; Pataky et al., 2002; Rollison et al., 2002; Siqueira Jr et al., 2002; McGurkin-Smith et al., 2005; Berber et al., 2006; Chuste-Guillot et al., 2006; Aydin et al., 2007; Hockett et al., 2008; Machado et al., 2010; Singla et al., 2010; Siqueira Jr et al., 2010; Paranjpe et al., 2012).

O modelo experimental aplicado em prés-molares inferiores humanos *ex vivo* ilustra uma proposta interessante, dadas as suas variáveis anatômicas e, também, por representarem um ambiente propício para a proliferação bacteriana, simulando uma infecção endodôntica, com a presença de bactérias na luz do canal e no interior de túbulos dentinários.

Foi realizado o vedamento da região apical dos dentes utilizando-se resina composta fotopolimerizável Z 100, bem como as superfícies radiculares foram impermeabilizadas externamente com duas camadas de adesivo *epóxi Araldite* (Brascola Ltda, Taboão da Serra, SP, Brasil), exceto na região da abertura cervical, para impedir a contaminação por outras espécies bacterianas e evitar que as bactérias do interior do canal atingissem o meio externo do dente, seguindo a metodologia realizado por Dametto et al., 2005, Cardoso et al., 2008, Dornelles-Morgental et al., 2011 e Lima et al., 2012.

A escolha por *E. faecalis* deve-se ao fato de ser frequentemente encontrada em casos de insucessos na terapia endodôntica (Schirrmeister et al., 2007; Machado et al., 2010; Dornelles-Morgental et al., 2011; Guerreiro-Tanomaru et al., 2011), além de possuir habilidade de formação de biofilme, bem como sua capacidade de invadir túbulos dentinários, aderir ao colágeno, e sobreviver a períodos extensos de privação nutricional (Love 2001; Sedgley et al., 2005).

Essas metodologias, através da contagem de UFC, deram suporte para estabelecer o período de contaminação, a qual foi de 21 dias, pois esse é o tempo necessário para que a suspensão de *E. faecalis* se difunda pelos túbulos dentinários em direção ao cimento (Berber et al., 2006; Cardoso et al., 2008; Dornelles-Morgental et al., 2011). Como o método de coleta com cones de papel absorvente esterilizados limita-se à luz do canal radicular, não atingindo as bactérias dos túbulos dentinários (Sem et al., 1995), foi realizada a coleta final depois de sete dias finalizada a instrumentação (Menezes et al., 2004; Dametto et al., 2005; Cardoso et al., 2008; Dornelles-Morgental et al., 2011; Lima et al., 2012).

Os motivos pelo uso do hipoclorito de sódio, como irrigante, deu-se ao sistema de irrigação do SAF ser diferenciado, seguindo também o estudo realizado por Siqueira Jr et al., 2012, por meio do qual, ao realizar a avaliação da descontaminação pelo preparo com o SAF, também utilizou o NaOCl. Já o seu volume utilizado se fuesse os estudos que demonstram que, quanto maior o volume empregado, maior a redução de carga de microrganismos (Sedgley et al., 2005; Alves et al., 2011), bem como a recomendação do fabricante do TiLOS ser uma irrigação abundante do canal radicular, que foi padronizado em 40mL.

Sendo assim, os tópicos 2.5 e 2.6 da revisão de literatura nortearam a metodologia realizada no presente trabalho. Através deles, decidiu-se o período de contaminação, as coletas a serem realizadas e a melhor maneira de elas serem efetuadas.

Para a estatística, optou-se por ANOVA e Tukey para os resultados que apresentaram distribuição normal, permitindo, assim, uma análise paramétrica. Essas análises também foram utilizadas nos estudos de Chuste-Guillot et al. (2006), Dornelles-Morgental et al. (2011) e Lima et al. (2012). Quando os resultados não apresentaram distribuição normal, foi usado Kruskal-Wallis e Dunn, seguindo os ensaios de Menezes et al. (2004), Dametto et al. (2005) e Berber et al. (2006).

Frente à análise dos resultados, podemos observar dois pontos fundamentais. O primeiro está relacionado a uma redução significativa da infecção após o preparo biomecânico: os valores são reforçados por diferentes estudos encontrados na literatura (Dalton et al., 1998; Siqueira Jr et al., 1999; Coldero et al., 2002; Siqueira Jr. et al., 2002; Pataky et al., 2002; McGurkin-Smith et al., 2005; Berber et al., 2006; Chuste-Guillot et al., 2006; Aydin et al., 2007; Machado et al., 2010; Siqueira Jr. et al., 2010; Alves et al., 2011; Paranjpe et al., 2012). Na avaliação comparativa entre os grupos, as mesmas tendências foram observadas.

A interpretação de que, após a coleta final, houve um aumento significativo da carga microbiana em todos os grupos, observadas também por outros ensaios (Oliveira et al., 2007; Cardoso et al., 2008; Dornelles-Morgental et al., 2011), demonstra claramente a eficiência do método em questão. As bactérias cresceram, foram eliminadas parcialmente e desenvolveram novamente, isto é, estavam viáveis até o final do experimento, reforçando, desse modo, os resultados obtidos. Evidenciou-se, portanto, que o preparo biomecânico promove desinfecção, e não esterilização do sistema de canais radiculares.

Os resultados deste trabalho demonstram um desempenho significativo e positivo dos sistemas Mtwo, TiLOS e SAF na ação de desinfecção do sistema de canais radiculares, podendo ser aplicada a clínica cotidiana.

7 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia empregada, pode concluir que:

- Os sistemas SAF, TiLOS e Mtwo, associados à irrigação com solução de hipoclorito de sódio, promovem redução significativa de *Enterococcus faecalis*;
- Não houve diferença estatística significativa entre os sistemas analisados.

REFERÊNCIAS¹

Abou-Rass M, Frank AL, Glick DH. The anticurvature filing method to prepare the curved root canal. J Am Ass. 1980;101:792 – 4.

Alves FRF, Almeida BM, Neves MAS, Moreno JO, Rôças IN, Siqueira Jr, JF. Disinfecting Oval-shaped Root Canals: Effectiveness of Different Supplementary Approaches. J Endod. 2011;37:496–501.

Alves FRF, Almeida BM, Neves MAS, Rôças IN, Siqueira Jr, JF. Time-dependent antibacterial effects of the Self-Adjusting File used with two sodium hypochlorite concentrations. J Endod. 2011; 37: 1451–1455.

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

Bender IB, Seltzer S, Turkenkopf S. To culture or not to culture? Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1964;18:527-40.

Berber VB, Gomes BPFA, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CCR, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canal and dentinal tubules. Int Endod J. 2006;39:10-7.

Bürklein S, Hiller C, Huda M, Schäfer E. Shaping ability and cleaning effectiveness of Mtwo versus coated and uncoated EasyShape instruments in severely curved canals of extracted teeth. Int Endod J. 2011;44:447-57.

Câmara AC, Albuquerque MM, Aguiar CM, Correia ACRB. In vitro antimicrobial activity of 0,5%, 1%, and 2,5% sodium hypochlorite in root canals instrumented with the ProTaper Universal system. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;108:e55-e61.

Card SJ, Sigurdsson A, Ørstavik D, Trope M. The effectiveness of increased apical enlargement in reducing intracanal bacteria. J Endod. 2002;28(11):779-83.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

Cardoso MG, Oliveira LD, Koga-Ito CY, Jorge AO. Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008;105:85-91.

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. 2006; (102): 254-2.

Clem WH. Endodontics: the adolescent patient. Dent Clin North Am. 1969;13(2):483-93.

Coldero LG, McHugh, MacKenzie D, Saunders WP. Reduction in intracanal bacteria during root canal preparation with and without apical enlargement. International Endodontic Journal. 2002;35:437– 46.

Craig RG, Peyton FA. Physical properties of stainless steel endodontic files and reamers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1963;16(2):207-17.

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

Dametto FR, Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, TeixeiraFB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005;99:768-72.

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

ElAyouti A, Chu AL, Kimionis I, Klein C, Weiger R, Löst C. Efficacy of rotary instruments with greater taper in preparing oval root canals. Int Endod J. 2008;41:1088–92.

Frank AL. An evolution of the Giromatic endodontic handpiece. Oral Surg, Oral Med Oral Pathol. 1967;24(3):419-42.

Guerreiro-Tanomaru JM, Morgental RD, Flumignan DL, Gasparini F, Oliveira JE, Tanomaru-Filho M. Evaluation of pH, available chlorine content, and antibacterial

activity of endodontic irrigants and their combinations against *Enterococcus faecalis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011;112:132-5.

Gurgel-Filho ED, Vivaqua-Gomes N, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Zaia AA, Souza-Filho FJ. In vitro study of the effectiveness of the chemomechanical preparation against *Enterococcus faecalis*. Braz Oral Res. 2007;21(4):308-13.

Hennicke A. Experiences with “Giromatic”. Dent Diest. 1966;18(4):19.

Hockett JL, Dommischi JK, Johnson JD, Cabenca N. Antimicrobial efficacy of two irrigation techniques in tapered and nontapered preparations: an in vitro study. J Endod. 2008;34(11):1374–7.

Hof R, Perevalov V, Eltanani M, Zary R, Metzger Z. The self-adjusting file (SAF). Part 2: mechanical analysis. J Endod. 2010;36:691–6.

Imparato JCP, Nassif ACS, Ramos DLP, Tieri F, Matsumoto IT, Franchim GH. Banco de dentes humanos. Curitiba: Editora Maio. 2003. 190p.

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

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

Ingle JL, Levine M. The need for uniformity of endodontic instruments, equipment and filling materials. In: Grossmann LI, editors. Transactions of the Second International Conference on Endodontics. Philadelphia: University of Pennsylvania; 1958. p. 123.

Kakehashi S, Stanley HP, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surgery. 1965;20:340-9.

Leonardo MR. Endodontia: tratamento de canais radiculares – princípios técnicos e biológicos. 1a ed. São Paulo: Artes Médicas; 2005. Capítulo 2.

Leonardo MR, Leonardo RT. Sistemas Rotatórios em Endodontia. São Paulo: Artes Médicas; 2002. Capítulo.4,3-34.

Leonardo MR, Leonardo RT. Endodontia: conceitos biológicos e recursos tecnológicos. São Paulo: Artes Médicas; 2009.p.553- 69.

Lima RKP, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria-Júnior NB, Tanomaru-Filho M. Effectiveness of calcium hydroxide-based intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis*. Int Endod J. 2012;45:311–16.

Love RM. *Enterococcus faecalis*: a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J. 2001;34:399-405.

Machado MEL. Endodontia da Biologia à Técnica. São Paulo: Santos; 2007.484 p.

Machado MEL, Massafelli M, Canepa R, Romani NF. Cirurgia de acesso em endodontia e sua influência na instrumentação dos canais radiculares. Rev Assoc paul Cir Dent. 1984;38(1):76p.

Machado MEL, Sapia LAB, Cai Silvana, Martins GHR, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. J Endod. 2010;36:1238-40.

Machado MEL, Sydney GB, Massafeli M. Preparo mecânico do canal radicular e escalonado. Rev Assoc paul Cir Dent. 1982;36(1):78.

Manzur A, González AM, Pozos A, Silva-herzog D, Friedman S. Bacterial quantification in teeth with apical periodontitis related to instrumentation and different intracanal medications: a randomized clinical trial. J Endod. 2007; 33(2):114–8.

Marshall FJ, Pappin J. A crown-down pressureless-preparation root canal enlargement technique. Technique Manual, Portland, Oregon, Oregon Health Sciences University; 1980.

Martinho FC, Gomes BPFA. Quantification of endotoxins and cultivable bacteria in root canal infection before and after chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite. J Endod. 2008;34(3):268–72.

McGurkin-Smith R, Trope M, Caplan D, Sigurdsson A. Reduction of intracanal bacteria using GT rotary instrumentation, 5.25% NaOCl, EDTA, and Ca(OH)₂. J Endod. 2005;31(5):359–3.

Menezes MM, Valera MC, Jorge AOC, Koga-Ito CY, Camargo CHR, Mancini MNG. *In vitro* evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J*. 2004;37:311-9.

Metzger Z, Better H, Abramovitz I. Immediate root canal disinfection with ultraviolet light: an ex vivo feasibility study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;104:425-433.

Metzger Z, Teperovich E, Zary R, Cohen R, Hof R. The self-adjusting file (SAF). Part 1: respecting the root canal anatomy — a new concept of endodontic files and its implementation. *J Endod*. 2010;36:679–90.

Metzger Z, Cohen R, Zary R, Teperovich E, Paqué F, Hülsmann M. The Self-adjusting File (SAF). Part 3: removal of debris and smear layer – a scanning electron microscope study. *J Endod*. 2010;36:697-702.

Oliveira DP, Barbizam JVB, Trope M, Teixeira FB. In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;103:702-6.

Ozdemir HO, Buzoglu HD, Calt S, Stabholz A, Steinberg D. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid and sodium hypochlorite irrigation on *Enterococcus faecalis* biofilm colonization in young and old human root canal dentin: *In vitro* study. *J Endod*. 2010;36:842–6.

Paranjpe A, Gregorio C, Gonzales AM, Gomez A, Herzog DS, Piña AA, Cohenca N. Efficacy of the Self-Adjusting File system on cleaning and shaping oval canals: A microbiological and microscopic evaluation. *J Endod*. 2012;38:226–31.

Pataky L, Iványi I, Grigár A, Fazekas A. Antimicrobial efficacy of various root canal preparation techniques: an in vitro comparative study. *J Endod*. 2002;28(8):603–5.

Ricucci D, Lin LM, Spangberg LS. Wound healing of apical tissues after root canal therapy: along-term clinical, radiographic, and histopathologic observation study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108:609- 21.

Riitano F. Anatomic endodontic technology (AET) – a crown-down root canal preparation technique: basic concepts, operative procedure and instruments. *Int Endod J*. 2005;38:575–87.

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

Schäfer E, Erler M, Dammaschke T. Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments. Part 2. Cleaning effectiveness and shaping ability in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J.* 2006;39:203-12.

Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Amer.* 1974;18:269.

Schirrmeister JF, Liebenow AL, Braun G, Wittmer A, Hellwig E, Al-Ahmad A. Detection and eradication of microorganisms in root-filled teeth associated with periradicular lesions: an in vivo study. *J Endod.* 2007;33:536–40.

Sedgley CM, Lennan SL, Appelde OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J.* 2005;38:735–42.

Sedgley CM, Nagel AC, Hall D, Applegate B. Influence of irrigant needle depth in removing bioluminescent bacteria inoculated into instrumented root canal using real-time imaging in vitro. *Int Endod J.* 2005;38:96-104.

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

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;109:e105-e110.

Siqueira Jr. JF, Araújo MCP, Garcia PF, Fraga RC, Dantas CJS. Histological evaluation of the effectiveness of five instrumentation techniques for cleaning the apical third of root canals. *J Endod.* 1997;23(8):499–502.

Siqueira Jr. JF, Lima K, Magalhães FAC, Lopes HP, Uzeda M. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod.* 1999;25(5):332–5.

Siqueira Jr. JF, Rôças IN, Santos SRLD, Lima KC, Magalhães FAC, Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing bacterial population within root canals. *J Endod.* 2002; 28(3):181–4.

Siqueira Jr JF, Alves FRF, Bernardo M, Almeida BM, Machado de Oliveira JC, Rôças JN. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or Self-Adjusting File to disinfect oval-shaped root canals. *J Endod.* 2010;36:1860–5.

Stevens RH, Grossman LI. Evaluation of the antimicrobial potencial of calcium hydroxide as na intracanal medicament. *J Endod.* 1983;9:372-4.

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

Vivacqua-Gomes N, Gurgel-Filho ED, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. Recovery of *Enterococcus faecalis* after single or multiple visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. *Inter Endod J.* 2005;38:697–704.

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

Zmener O, Pameijer CH, Serrano SA, Hernandez SR. Cleaning efficacy using two engine-driven systems versus manual instrumentation in curved root canals: a scanning electron microscopic study. *J Endod.* 2011;37:1279–1282.

APÊNDICE A – Tabela de resultados (ufc/mL log) do sistema SAF (inicial, pós-preparo e final)

<i>Amostra</i>	<i>Inicial</i>	<i>Pós-preparo</i>	<i>Final</i>
1	6.8	0	6.11
2	6.88	0	7.36
3	6.96	3.76	7.79
4	6.6	0	6.52
5	7.31	0	6.67
6	6.92	0	6.94
7	7.22	0	5.82
8	6.86	0	5.81
9	7.72	0	5.65
10	7.11	4.23	7.99
11	7.13	5.93	6.78
12	6.76	0	6.67
13	6.81	0	6.08
14	7.8	0	5.85

*log de unidades formadoras de colônia po mL.

APÊNDICE B – Tabela de resultados (ufc/mL log) do sistema TiLOS (inicial, pós-preparo e final)

<i>Amostra</i>	<i>Inicial</i>	<i>Pós-preparo</i>	<i>Final</i>
1	7.71	0	7.5
2	8	0	6.88
3	6.68	0	6.7
4	7.72	0	5.32
5	7.76	0	6.98
6	7.15	0	6.86
7	6.9	0	8.04
8	7	0	6.99
9	7.71	0	3.91
10	7.04	0	6.88
11	7.86	0	7.1
12	7	0	7
13	7.2	0	6.12
14	7	0	7.83

*log de unidades formadoras de colônia po mL.

APÊNDICE C – Tabela de resultados (ufc/mL log) do sistema Mtwo (inicial, pós-preparo e final)

<i>Amostra</i>	<i>Inicial</i>	<i>Pós-preparo</i>	<i>Final</i>
1	7.43	0	6.79
2	7.74	0	8.19
3	7.74	0	8.13
4	7.11	0	7.12
5	7.24	0	7.1
6	7.49	0	6.67
7	6.78	0	6.89
8	8.11	0	6.99
9	7.81	0	6.18
10	7	0	6.09
11	8.08	0	6.94
12	7.71	0	5.89
13	6.9	0	7.54
14	7.12	0	7.1

*log de unidades formadoras de colônia po mL.

APÊNDICE D – Tabela de resultados (ufc/mL log) do grupo controle (inicial e final)

<i>Amostra</i>	<i>Inicial</i>	<i>Final</i>
1	6.76	7.15
2	7.48	6.98
3	7.7	5.09
4	7.15	6.71
5	8.15	6.74

*log de unidades formadoras de colônia po mL.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO B – Comitê de Ética em Pesquisa FOU SP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CEP/FOUSP/OF.58/12

Senhor Professor,

Informamos a Vossa Senhoria, que diante do Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade da Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP) - Protocolo Nº 24/11, estamos cientes da aprovação do projeto de pesquisa em 13 de maio de 2011, título do projeto: **"Avaliação ex vivo da efetividade de diferentes cinemáticas para preparo do sistema de canais radiculares sobre enterococcus faecalis"**, de responsabilidade do Pesquisador Mário Francisco Leonardo, sob orientação do Professor Doutor Manoel Eduardo de Lima Machado, não havendo nenhuma oposição por parte deste CEP, com relação a sua realização.

São Paulo, 27 abril de 2012.

Prof. Dra. **Marcia Turolia Wanderley**
Coordenadora do CEP-FOUSP