

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO**

ISABELA LIMA DE MENDONÇA

**Desinfecção intracanal e extrusão apical promovidas por diferentes
sistemas mecanizados rotatórios e recíprocos**

Ribeirão Preto

2019

ISABELA LIMA DE MENDONÇA

Desinfecção intracanal e extrusão apical promovidas por diferentes sistemas mecanizados rotatórios e recíprocos

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de Doutor em Ciências – Programa: Odontologia Restauradora - Área de concentração: Odontologia Restauradora (Opção: Endodontia) realizada em conjunto com a Universidade Case Western Reserve, Cleveland, Ohio, EUA, com bolsa de doutorado sanduíche no exterior.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Pascoal Vansan

Supervisor: Prof. Dr. Renato Roperto

Ribeirão Preto

2019

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

Assinatura do autor: _____ Data: ____/____/2019

Ficha Catalográfica

Mendonça, Isabela Lima

Desinfecção intracanal e extrusão apical promovidas por diferentes sistemas mecanizados rotatórios e recíproca. Ribeirão Preto, 2019.

85p.: il.; 30 cm

Tese de doutorado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP-USP), área de concentração: Odontologia Restauradora – área Endodontia. A versão original se encontra disponível na Unidade que aloja o Programa.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Pascoal Vansan

1. Desinfecção intracanal 2. Extrusão apical 3. Preparo biomecânico 4. Instrumentos endodônticos 5. *Enterococcus faecalis*

MENDONÇA, I. L. Desinfecção intracanal e extrusão apical promovidas por diferentes sistemas mecanizados rotatórios e recíproca. 2019, 85p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Aprovado em:

Banca Examinadora

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

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____



Este trabalho de pesquisa foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Reabilitação Oral do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, nos Laboratórios de Pesquisa em Endodontia do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, no Laboratório do Departamento de Atendimento Integrado da Faculdade de Odontologia da Universidade Case Western Reserve e no Laboratório do Departamento de Ciência Macromolecular e Engenharia da Faculdade de Engenharia da Universidade Case Western Reserve, com bolsa do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior da CAPES (Processo nº 88881.135778/2016-01).

This research was conducted at the Oral Rehabilitation Research Laboratory of Department of Dental Materials and Prosthodontics and at the Endodontic Research Laboratory of the Department of Restorative Dentistry of the School of Dentistry of Ribeirão Preto at University of São Paulo; at the Laboratory of the Comprehensive Care Department at Case Western Reserve School of Dental Medicine, and at the Department of Macromolecular Science and Engineering Laboratory at Case Western Reserve School of Engineering, with an abroad scholarship from the Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Higher Education (CAPES) (#88881.135778 / 2016-01).

Dedicatória

In Memoriam

À **tia Hélia**, minha Nhenhé, minha segunda mãe, a pessoa mais generosa e altruísta que já conheci nessa vida.

Agradecimientos

A **Deus**, o maior de todos os mestres, por mais esta graça alcançada. Sem Sua presença em meus caminhos, nada seria possível.

À minha mãe **Telma Morais Lima** e a meu pai **Reginaldo Domingues de Mendonça**, que numa vida inteira de renúncias e doação, ao mesmo tempo em que nunca me deixaram faltar amor, carinho e incentivo, me ensinaram a viver com dignidade e a valorizar o trabalho e o maior bem que me deixarão de herança: a educação.

À minha irmã **Débora Lima de Mendonça**, minha grande amiga, companheira de vida, sempre a me aconselhar e a me motivar, que me dá a certeza que eu jamais estarei só.

Ao meu namorado, **Luiz Fernando Bazzo Catto**, que desde o dia em que conheci só me incentiva para o bem, por me fazer acreditar que a todo momento eu posso ser mais e melhor, além de ser um exemplo de profissional no qual eu me inspiro. E à sua família querida, **família Bazzo Catto**, pelo apoio, torcida e carinho.

A **todos os meus familiares**, em especial a **minha avó Nita** pela doçura, amor e confiança depositada, por tudo que fizeram e fazem por mim e por torcerem pelo meu sucesso e desenvolvimento.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Luiz Pascoal Vansan**, que mesmo diante das dificuldades, nunca expressou sinal algum de desânimo, reclamação ou falta de fé, ao contrário, sempre espirituoso, confiante e com palavras de motivação e gratidão pela vida. Um exemplo de generosidade de alma, bondade e caráter a ser seguido. Sou muito grata por ter tido a oportunidade de ser uma de seus orientados ao longo desses quase 6 anos e por conviver com esse grande ser humano e excelentíssimo mestre, a quem devo meu respeito e profunda admiração.

Ao **Prof. Dr. Renato Roperto**, por ter me recebido e proporcionado a experiência ímpar do doutorado sanduíche na Universidade *Case Western Reserve* que foi essencial para o meu crescimento profissional e pessoal. Aos prezados **Prof. Dr. Fábio Rizzante** e doutorando **Ítalo Silva**, pela amizade, ensinamentos e troca de

experiências. E a todos os amigos que fiz em *Cleveland*, que tornaram minha jornada ainda mais prazerosa.

A todos os docentes do Programa de Pós-graduação em Odontologia Restauradora da FORP-USP: **Prof. Dr. Manoel Damião de Sousa Neto, Prof. Dr. Jesus Djalma Pécora, Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dibb, Prof. Dr. Antônio Miranda da Cruz Filho, Profa. Dra. Aline Evangelista de Souza Gabriel, Prof. Dr. Ricardo Novak Savioli, Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva, Prof. Dr. César Bataglion**, pelos ensinamentos, lições e contribuição para a minha formação.

Ao prezado **Prof. Dr. Evandro Watanabe**, sempre solícito, que me acolheu e me apresentou ao mundo da microbiologia e contribuiu de forma ativa e indispensável para que a realização deste trabalho fosse possível. E ao **Prof. Dr. Lenaldo Rocha**, pelo apoio e esclarecimentos.

Aos funcionários, **Carlos Feitosa, Reginaldo Santana, Débora Guedes, Ligia Santoro, José Augusto Maulin, Juliana Faraoni, Patrícia Marchi, Frederico Augusto Farias, Maria Amália de Oliveira, Maria Isabel Miguel, Isabel Cristina Sola e Mary Carmessano**, pela solicitude, atenção e auxílio.

Ao Departamento de Materiais Dentários de Prótese, que me recebeu e tornou viável parte da execução dessa pesquisa, em especial à **Profa. Dra. Valéria Oliveira Pagnano de Souza** e à técnica de laboratório **Me. Viviane de Cássia Oliveira**, a quem eu “aperriei” muito durante todo o processo experimental deste trabalho, com quem aprendi diariamente, e por quem tenho grande admiração, não só pelo seu conhecimento, trabalho e fundamental colaboração, mas também por sua paciência e integridade.

Aos amigos do curso de pós-graduação **Aline Mori, Fabiane Lopes, Jardel Mazzi, Graziela Leoni, Luis Eduardo Flamini, Bruno Crozeta, Rodrigo Dantas, Reinaldo Dias, Fernanda Plotegher, Larissa Ernesto, Mirian Saavedra, Júlia Gallas, Rafael Camargo, Rafael Assis, Fabiana Paiola, Daniel Filizola, Fillipe Silva, Bárbara Jobim, Caroline Borges, Isadora Soares, Igor Petean, Vanessa Lessa, Kleber Carvalho, Patricia Escobar, Gabriela Gabilan Hadid, Vitor Ribeiro**,

Thais Alves, Vicente Fretes. Em especial à querida **Isabella Ziotti**, pela colaboração na produção das imagens fotográficas, e os “vansetes”: **Paulo André Yamin, Amanda Biagi, Ariane Fernandez, Larissa Dantas** pela parceria e cumplicidade. E aos amigos dos demais cursos de pós-graduação: **Raony Môlim, Késsia Mesquita, Marília Lamenha, Thalisson Saymo, Frank Lucarini, Leonardo Lobo, Lisa Curcino, Marina Vilela, Bruna Tonin.**

À **CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior**, pelo apoio financeiro durante toda minha trajetória na pós-graduação e pela bolsa do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior – PDSE outorgada.

À **Universidade Case Western Reserve**, pela oportunidade de usufruir da sua estrutura de alto nível, da valiosa convivência com exímios profissionais e da experiência enriquecedora tanto para meu crescimento profissional como pessoal.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e ao Departamento de Odontologia Restauradora** pela oportunidade da realização do curso de mestrado e doutorado, pela acolhida e receptividade.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento.

Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.

Albert Einstein

*R*esumo

MENDONÇA, I. L. **Desinfecção intracanal e extrusão apical promovidas por diferentes sistemas mecanizados rotatórios e recíprocante.** 2019, 85p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar a desinfecção intracanal e a extrusão apical de debris e bactérias, promovidas pelo preparo biomecânico com diferentes sistemas mecanizados de NiTi rotatórios e recíprocante em dentes contaminados com *Enterococcus faecalis*. Os sistemas testados foram: BioRace (Grupo I BR); Hyflex EDM (Grupo II HE); e Reciproc Blue (Grupo III RB). Três dentes previamente contaminados e não instrumentados foram usados como controle positivo; e três dentes que não foram infectados, foram instrumentados com um dos três sistemas e usados como controle negativo. Trinta e três incisivos inferiores permanentes foram selecionados e tiveram suas câmaras pulpares acessadas. O comprimento de trabalho foi determinado a 1 mm aquém do forame apical e o diâmetro anatômico inicial correspondeu a uma lima tipo K #20. Para confecção das plataformas experimentais, os dentes foram fixados a tampas rosqueáveis acopladas a frascos de vidro, para que a parte apical da raiz ficasse suspensa dentro do frasco. As plataformas foram esterilizadas em autoclave a 121°C e os canais radiculares foram contaminados com *Enterococcus faecalis* por 21 dias para formação de biofilme. A instrumentação dos canais foi realizada usando solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% em um volume total constante de 7 mL para todos os grupos. Coletas microbiológicas foram realizadas antes (CM1) e após (CM2) o preparo biomecânico, utilizando três cones de papel absorvente esterilizados, posteriormente armazenados em caldo Lethen e incubados a 37°C por 24 horas. Uma terceira coleta microbiológica (CM3), de 1 mL da suspensão de material extruído pelo forame, foi efetuada com micropipetas. O crescimento bacteriano foi analisado pela turbidez do meio de cultura, para determinar a ausência ou presença de bactérias, seguida da confirmação da pureza da cultura por meio de semeadura em placa de Petri com BHIA. Os frascos de vidro, que coletaram material extruído, foram pesados antes (P1) e após (P2) o preparo biomecânico. A massa foi obtida pela diferença entre a massa inicial (P1) e final (P2). O volume do material extruído foi determinado por meio de micropipetas. Os dentes foram seccionados e preparados para análise da desinfecção dos canais radiculares por meio de imagens de MEV. A análise dos resultados mostrou presença de bactérias na CM1, CM2 e CM3 em todos os grupos experimentais. A presença de bactérias foi constante na CM1. Não foi encontrada diferença estatística entre os grupos quanto à desinfecção intracanal ($p=0,136$) e à extrusão bacteriana ($p=0,100$). Ocorreu extrusão em todos os grupos, mas não houve diferença estatística entre eles tanto para peso ($p=0,641$) quanto para volume ($p=0,509$). As imagens de MEV revelaram presença de *E. faecalis* nas paredes dos canais radiculares de todos os grupos, formando estruturas semelhantes a biofilme, confirmando os resultados da CM2. Nenhum sistema testado foi capaz de promover completa eliminação bacteriana em todos os canais radiculares. Todos causaram extrusão apical de debris carregados pela solução irrigante e extrusão bacteriana, com incidência e quantidade semelhantes. Os sistemas rotatórios BioRace e Hyflex EDM e recíprocante Reciproc Blue promoveram desinfecção intracanal, extrusão apical de debris e extrusão bacteriana similares.

Palavras-chave: desinfecção intracanal; extrusão apical; preparo biomecânico; instrumentos endodônticos; *Enterococcus faecalis*.

*A*bstract

MENDONÇA, I. L. **Intracanal disinfection and apical extrusion provided by rotary and reciprocating mechanized systems.** 2019, 85p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

The aim of this *in vitro* study was to evaluate intracanal disinfection, apical debris extrusion, and bacterial extrusion, provided by biomechanical preparation by different NiTi mechanized systems in contaminated teeth with *Enterococcus faecalis*. The tested systems were: BioRace (Group I BR); Hyflex EDM (Group II HE); e Reciproc Blue (Group III RB). Previously contaminated and not prepared three teeth served as a positive control, and not contaminated three teeth were prepared with one of the three systems and served as a negative control. Thirty-three permanent mandibular incisors were selected, and the access cavity preparation was performed. The working length was established 1 mm short of the anatomical apex and the initial canal diameter corresponded to a size #20 K-file. Experimental apparatus was composed by teeth affixed to lids attached to glass vials so that the apical portion of roots were suspended inside of the vials. Experimental apparatus were autoclaved for 30 min at 120 °C, and the root canals were contaminated with *Enterococcus faecalis* for 21 days to form a bacterial biofilm. The root canal instrumentation was carried out using 1% sodium hypochlorite (NaOCl), and a total volume of 7 mL per canal was standardized. Samples for microbiological tests were collected using three sterile paper points, later stored in Letheen broth and incubated at 37 °C for 24hs hours at two-time points: before (S1) and after (S2) biomechanical preparation. The third sample for microbiological tests (S3) was collected from 1 mL of extruded material suspension using micropipettes. Bacterial growth was confirmed by the medium's turbidity, to determinate absence or presence of bacteria, and the purity of the cultures was checked by seeding on Petri plates containing BHI agar. The glass vials, which collected root canal material extruded, were weighted before (W1) and later (W2) biomechanical preparation, and the mass was considered as the difference between final and initial mass values. Micropipettes determined the extruded material volume. Specimens were sectioned and prepared for SEM analysis of intracanal disinfection. Data analysis showed that bacteria were found at S1, S2, and S3 in all experimental groups. The bacterial presence was constant for CM1. There were not statistically different for intracanal disinfection ($p= 0,136$) and bacterial extrusion ($p=0,100$) between groups. There was extrusion in all groups, but there was no difference between them regarding weight ($p=0,641$) and volume ($p=0,509$). SEM analysis revealed *E. faecalis* presence on the root canal walls, forming biofilm-like structures, supporting the S2 data. No tested system was capable of promoting complete bacterial elimination of all root canals. All of them caused apical extrusion of debris carried by irrigant solution and bacterial extrusion, presenting similar incidence and amount. The rotary systems BioRace and Hyflex EDM and the reciprocating system Reciproc Blue rendered similar intracanal disinfection, debris apical extrusion, and bacterial extrusion.

Keywords: Intracanal disinfection; apical extrusion; biomechanical preparation; endodontic instruments; *Enterococcus faecalis*.

*S*umário

SUMÁRIO

Introdução.....	1
Proposição.....	15
Materiais e Métodos.....	19
Resultados.....	35
Discussão.....	45
Conclusões.....	67
Referências.....	71

Introdução

O sucesso da terapia endodôntica baseia-se em princípios consistentes de desbridamento, desinfecção e selamento hermético do sistema de canais radiculares, para que a cura dos tecidos perirradiculares seja alcançada (MITTAL et al., 2015; GONÇALVES et al., 2016; AHANGARI et al., 2017).

A desinfecção efetiva do sistema de canais radiculares está relacionada com a eliminação de bactérias e células mortas, dissolução de tecido pulpar (GUNESER; ARSLAN; USUMEZ, 2015), desagregação de biofilmes (CASE et al., 2012), remoção e neutralização de fatores de virulência bacteriana (XAVIER et al., 2013).

Bactérias e seus subprodutos são considerados a principal causa de doenças pulpares e perirradiculares (KAKEHASHI et al., 1965; FERRER-LUQUE et al., 2014; NEVES et al. 2016) e de infecções secundárias, ou seja, periodontites apicais pós-tratamento (ANTUNES et al., 2015).

Diferentes espécies bacterianas são capazes de colonizar o sistema de canais radiculares (SIQUEIRA; ALVES; RÔÇAS, 2011). Na infecção endodôntica primária, as espécies bacterianas gram-negativas são predominantes (MARTINHO et al., 2010; GOMES; ENDO; MARTINHO, 2012), enquanto que na infecção secundária, há uma prevalência de gram-negativas (SUNDQVIST et al., 1998; PINHEIRO et al., 2003).

Apesar de estudos indicarem a presença de algumas espécies gram-negativas na infecção endodôntica secundária (GOMES; PINHEIRO, 2008; SUBRAMANIAN; MICKEL, 2009; GOMES; ENDO; MARTINHO, 2012), a literatura tem revelado que sua principal etiologia advém de uma infecção bacteriana gram-positiva (SUNDQVIST et al., 1998; PINHEIRO et al., 2003).

Além disso, não está eliminada a possibilidade da ocorrência de infecção secundária por outros patógenos, tais como *Enterococcus faecalis*, bactéria oportunista gram-positiva, comumente encontrada em associação com infecções

endodônticas persistentes (PECIULIENE et al., 2001; PORTENIER et al., 2003; DAGNA et al., 2012; ZAN et al., 2016; RODRIGUES et al., 2017).

Enterococcus faecalis além de ser um micro-organismo comumente isolado em estudos que envolvem canais radiculares infectados, apresenta fatores de virulência (FALK; SEDGLEY et al., 2005; MUHAMMAD et al., 2014) e capacidade de penetrar nos túbulos dentinários (HAAPASALO; ØRSTAVIK, 1987; VASCONCELOS et al., 2017) para formar comunidades organizadas em biofilmes, que podem contribuir para a resistência bacteriana aos procedimentos endodônticos (VIVACQUA-GOMES et al. 2005).

É uma espécie que suporta condições ecológicas adversas e se ajusta a desafios letais, como elevados valores de pH (RICUCCI et al., 2009); e exige pequena quantidade de nutrientes para sobreviver (PORTENIER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003). Pode resistir a agentes desinfetantes intracanal, inclusive alguns antibióticos (LIU et al., 2010; DAGNA et al., 2012; ODA et al., 2019), ou seja, é um patógeno resistente ao tratamento endodôntico convencional (DAGNA et al., 2012; FERRER-LUQUE et al., 2014) e de difícil eliminação, o que configura um desafio do ponto de vista clínico (ZAN et al., 2016).

O resultado do tratamento endodôntico em dentes necróticos depende, principalmente, da redução significativa do contingente bacteriano para um nível compatível com a cura (SIQUEIRA et al., 2013). Uma limpeza inadequada, leva à retenção de detritos infectados e micro-organismos residuais (BARBIERI et al., 2015), irritantes, que quando deixados dentro do sistema de canais radiculares, estão associados à dor pós-operatória (SIQUEIRA et al., 2002; BÜRKLEIN et al., 2012).

Estudos demonstram que agentes químicos irrigantes, utilizados durante o preparo, reduzem significativamente o número de bactérias no canal (SIQUEIRA et

al., 2013; RODRIGUES et al., 2017), porém a ação mecânica dos instrumentos pode ser responsável por mais de 90% da remoção bacteriana (ALVES et al., 2012; MACHADO et al., 2013; MARTINHO et al., 2014; MARINHO 2015; TEWARI et al., 2016; RODRIGUES et al., 2017), pois é eficaz no rompimento do biofilme e na desinfecção do canal principal (AYDIN et al., 2007; MACHADO et al., 2010; MATOS NETO et al. 2012).

Destarte, a erradicação de agentes irritantes do canal radicular por meio do preparo biomecânico é imprescindível, porém sem que haja danos aos tecidos perirradiculares (MITTAL et al., 2015).

Embora o cirurgião-dentista consiga controlar a técnica de preparo, a correta determinação do comprimento de trabalho e as características dos instrumentos selecionados, durante o preparo, inevitavelmente debris dentinários, fragmentos de tecido pulpar, detritos necróticos, micro-organismos e soluções irrigantes podem ser extruídos para os tecidos perirradiculares (SELTZER e NAIDORF, 1985; BÜRKLEIN et al., 2012).

O material extruído tem sido apontado como uma das principais causas de inflamação do ligamento periodontal e do retardo da cicatrização tecidual, e está relacionado à inflamação periapical e ao *flare-up* (SELTZER; NAIDORF, 1985; SIQUEIRA, 2003), descrito na literatura como a ocorrência de dor e inchaço durante o tratamento endodôntico, que causa visitas não programadas dos pacientes ao consultório odontológico (HARRINGTON; NATKIN, 1992), fenômeno também chamado de emergência entre as sessões (SIQUEIRA et al., 2002).

Durante o tratamento endodôntico, deve-se buscar então controlar a extrusão apical, especialmente em dentes infectados, pois bactérias extruídas apicalmente

podem ser uma fonte de infecção extrarradicular e vir a comprometer o resultado a longo prazo (RICUCCI et al., 2015; CABREIRA et al., 2019).

A literatura relata que todas as técnicas e instrumentos usados para preparo do canal radicular podem causar extrusão apical em algum grau (VANSAN et al., 1997; MATOS NETO et al., 2012; DE-DEUS et al., 2014; TANALP e GUNGOR, 2014; MITTAL et al., 2015; TINOCO et al., 2014; MARINHO et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2015; BORGES et al., 2016; CAVIEDES-BUCHELI et al., 2016; KOÇAK et al., 2013; ALVES et al., 2018; USLU et al., 2018).

No entanto, há relatos de que podem ocorrer variações na quantidade dessa extrusão na presença de determinados fatores, como tamanho do forame apical, diâmetro apical final, solução irrigante, técnica de instrumentação, conicidade, *design* e cinemática do instrumento endodôntico (AL-OMARI; DUMMER, 1995; REDDY; HICKS, 1998; SURAKANTI et al., 2014; NEVARES et al., 2015; FARMAKIS et al., 2016).

Associada à eficácia de medicamentos e antibacterianos na erradicação de bactérias e seus subprodutos, a instrumentação mecânica pode ser realizada por diversas técnicas (JATAHY FERREIRA DO AMARAL et al., 2016), por meio de instrumentos manuais de aço inoxidável ou de níquel-titânio (NiTi); e de sistemas mecanizados de NiTi acionados por movimentos rotatórios ou reciprocantes, criando-se assim espaço adequado para a obturação tridimensional.

Um dos mais importantes avanços ocorridos na Endodontia consiste na introdução da liga de NiTi na fabricação de instrumentos mecanizados, que revolucionou o protocolo de preparo de canais radiculares (CAVIEDES-BUCHELI et al., 2016). Introduzidos por Walia et al. (1988), os instrumentos de NiTi surgiram com o principal objetivo de superar a rigidez dos instrumentos de aço inoxidável

(ALSHWAIMI, 2012), e são associados a menor tempo de instrumentação e a melhor eficiência de corte quando comparados a instrumentos manuais (JATAHY FERREIRA DO AMARAL et al., 2016).

Os fabricantes vêm constantemente produzindo novos instrumentos ou modificando os sistemas já existentes, com o intuito de facilitar o preparo biomecânico, com segurança e eficiência (DRUKTEINIS et al., 2018; SHEN et al., 2018). Com o surgimento e aprimoramento contínuo de novos instrumentos de NiTi e de sua cinemática, tornou-se possível preparar canais radiculares com sistemas contendo número reduzido de instrumentos ativados em movimento rotatório, e também com instrumentos únicos ativados em movimento rotatório ou recíprocante (LIU et al., 2013; FERRER-LUQUE et al., 2014; PEDULLÀ et al., 2017).

Os vários sistemas de instrumentos de NiTi, comercialmente disponíveis, apresentam características diferentes que podem influenciar o seu comportamento (MAMEDE-NETO et al., 2017), tais como número de instrumentos, cinemática, *design*, tipo de liga e processo de fabricação (MACHADO et al., 2017).

As características e diferenças encontradas dentro desses parâmetros podem afetar não só as propriedades mecânicas, a eficiência de corte e modelagem dos instrumentos (GONZALEZ-RODRIGUEZ; FERRER-LUQUE, 2004), como também a capacidade de promover desinfecção intracanal (MACHADO et al., 2013; NABESHIMA et al., 2014; TEWARI et al., 2016; MACHADO et al., 2017) e extrusão de debris e bactérias através do forame (BÜRKLEIN; SCHÄFER, 2012; LU et al., 2013; BENTEN, 2014; TINOCO et al., 2014; CAVIEDES-BUCHELI et al., 2016).

O sistema Hyflex EDM (Coltene/Whaledent, Altstätten, Suíça), por exemplo, é constituído por limas rotatórias de NiTi, que assim como as limas Hyflex CM, sistema antecessor, apresentam efeito de controle de memória, o que confere ao instrumento

capacidade de recuperar sua forma original após tratamento térmico (PEDULLÀ et al., 2015; DE-DEUS et al., 2017).

O sistema Hyflex EDM foi lançado no mercado com a proposta de ser um novo instrumento projetado e comercializado para moldar canais radiculares usando tecnologia de um “instrumento único” em rotação contínua (PLOTINO, 2014; COLTENE/ WHALE DENT, 2016; USLU et al., 2018).

A expressão “instrumento único” encontra-se entre aspas, visto que o sistema é composto por mais instrumentos que auxiliam no preparo (AZIM et al., 2018). A sequência Hyflex EDM é a seguinte: *Orifice Opener* (25/.12), considerado opcional pelo fabricante; *Glidepath File* (10/.05), instrumento único *OneFile* (25/.08), e instrumentos complementares (40/.04, 50/.03 e 60/.02), também considerados opcionais.

Seu *design* é caracterizado por uma secção transversal variável, de modo que os instrumentos possuem 3 secções horizontais diferentes ao longo da parte de trabalho: triangular na terço cervical, garantindo flexibilidade e transporte; trapezoidal no terço médio; e quadrada na parte apical, responsáveis pela resistência à torção. (PEDULLÀ et al., 2015; VENINO et al., 2017). O instrumento *OneFile* possui conicidade de 0,08 em seus 4 mm apicais, que diminui para 0,04 ao longo da parte de trabalho do mesmo, enquanto que os demais instrumentos apresentam conicidades constantes (VENINO et al., 2017).

Apesar de fabricados a partir do mesmo fio que os instrumentos Hyflex CM, o sistema Hyflex EDM possui propriedades novas, em virtude do seu processo fabril, por meio de usinagem de eletro-descarga (*Electro-Discharge Machining* - EDM), um processo de eletroerosão, que gera faíscas e faz com que a superfície do material

derreta e evapore, tornando-os mais resistentes (ABBAS; SOLOMON; BAHARI, 2007; PEDULLÀ et al., 2015; COLTENE/WHALDENT, 2016; IACONO et al., 2017).

HyFlex EDM são os primeiros instrumentos endodônticos fabricados por meio desse procedimento (IACONO et al., 2017) e resultam numa combinação de flexibilidade, resistência à fratura e possibilidade da redução do número de limas usadas durante o tratamento endodôntico, sem comprometimento da preservação da anatomia do canal radicular (COLTENE/WHALDENT, 2016).

O desenvolvimento de sistemas de instrumento único de NiTi, surgiu na tentativa de facilitar o preparo biomecânico (BÜRKLEIN et al., 2016), e tornaram-se amplamente utilizados nos últimos anos (ALVES et al., 2018). Com este intuito, o sistema Reciproc (VDW, Munique, Alemanha), um dos mais usados atualmente (GAZZANEO et al., 2019), foi projetado e vem sendo comercializado para moldar canais radiculares usando a técnica de instrumento único.

É acionado em movimento recíprocante, de tal forma que 3 ciclos permitem uma rotação de 360° (NEVES et al., 2016). O movimento recíproco pode promover menor fadiga cíclica em comparação com sistemas rotatórios (DE-DEUS et al. 2010a), o que estende a vida útil do instrumento de NiTi (PLOTINO et al., 2015) e reduz a incidência de erros processuais, como fratura (YOU et al. 2011). Ademais, por ser um movimento mais amplo no sentido anti-horário, porém mais curto no sentido horário, pode resultar em um instrumento mais centralizado no canal (MARTINHO et al., 2015).

Recentemente, melhorias da liga e do processo de fabricação foram desenvolvidas através da tecnologia *M-wire* (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, EUA), para aumentar ainda mais a resistência à fadiga cíclica desse instrumento (VDW, 2016). A sua nova geração, Reciproc Blue (VDW, Munique, Alemanha), é repetidamente tratado e resfriado, o que lhe confere a característica cor azulada,

modifica sua estrutura molecular e otimiza seu *design* para proporcionar maior flexibilidade e resistência (VDW, 2016; GÜNDOĞAR; ÖZYÜREK, 2017).

Apesar da estrutura do instrumento ter sido melhorada por meio desse novo tratamento térmico, Reciproc Blue apresenta características semelhantes ao seu antecessor, Reciproc: secção transversal em forma de S, duas lâminas de corte, uma ponta de segurança não cortante e conicidade contínua nos primeiros 3 mm da parte de trabalho, que vai decrescendo (LIU et al., 2013; VDW, 2016; DE-DEUS et al., 2017; GÜNDOĞAR; ÖZYÜREK, 2017).

Segundo o fabricante, continua sendo necessário apenas um instrumento para o preparo, disponível em três tamanhos diferentes: R25 (25/.08); R40 (40/.06); e R50 (50/.05) (VDW, 2016). O tamanho do instrumento a ser usado em cada caso é escolhido de acordo com o diâmetro inicial do canal (GAZZANEO et al., 2019).

A literatura relata com frequência investigações a respeito desses dois sistemas de instrumentação quanto às suas características físicas e estruturais, resistência, e ocorrência de erros processuais (GÜNDOĞAR; ÖZYÜREK, 2017; DE-DEUS et al., 2017; IACONO et al., 2017; SHEN et al., 2018; IACONO et al., 2018; PEDULLÀ et al., 2018). Porém, a capacidade mecânica de remover micro-organismos dos canais radiculares e de causar extrusão apical de debris e de bactérias, na maioria das vezes, não é considerada ou está disponível para sistemas mais populares ou de geração anterior (ALVES et al., 2018; UREYEN et al., 2019).

Deste modo, seguindo o raciocínio de Bürklein, Jäger e Schäfer (2016), são necessárias avaliações comparativas dos novos sistemas com um sistema de NiTi de rotina, com sequência completa. O sistema BioRace (FKG Dentaire, Swiss Dental Products, La Chaux-de-Fonds, Suíça), parece atender este requisito de servir como referência para comparação, pois trata-se de um sistema já avaliado em investigações

anteriores (TINOCO et al., 2014; DA SILVA LIMOEIRO et al., 2016; NEVES et al., 2016; VASCONCELOS et al., 2017; XAVIER et al., 2018; GAZZANEO et al., 2019).

Os instrumentos da geração anterior, sistema RaCe, têm ponta de segurança não cortante, secção transversal triangular com lâminas de corte afiadas e alternadas, que melhoram a eficiência de corte enquanto produzem uma modelagem mais centralizada do canal (LOPES et al., 2010; DA SILVA LIMOEIRO et al., 2016).

São instrumentos fabricados a partir de tratamento de superfície de eletropolimento de NiTi austenita convencional, o que proporciona a remoção de defeitos superficiais que podem iniciar uma fratura quando o instrumento é submetido ao processo de fadiga cíclica (LOPES et al., 2010).

O sistema BioRace possui as mesmas características físicas do Race, porém é constituído de instrumentos diferentes quanto ao tamanho, conicidade e sequência (FKG DENTAIRE, 2012). Os diferentes diâmetros e conicidade dos instrumentos BioRace reduzem a área de contato com as paredes dos canais, o que minimiza o estresse torcional e proporciona o alcance do comprimento de trabalho com segurança (LOPES et al. 2010; FREIRE et al., 2011).

O kit básico é composto por seis instrumentos acionados em movimento rotatório contínuo: BR0 (25/.08), BR1 (15/.05), BR2 (25/.04), BR3 (25/.06), BR4 (35/.04) e BR5 (40/.04) (FKG DENTAIRE, 2012; DA SILVA LIMOEIRO et al., 2016; DRUKTEINIS et al., 2018).

Embora características e propriedades dos instrumentos sejam importantes alvos de estudos, o foco microbiológico deve ser ressaltado (VERA et al., 2012), devido à dificuldade de eliminação de bactérias do sistema de canais radiculares (VERA et al., 2012; NABESHIMA et al., 2014; NEVES et al., 2016; UREYEN et al., 2019), assim como também o controle da extrusão apical, uma vez que ambos

contribuem para o conforto pós-operatório e a cicatrização dos tecidos perirradiculares (ALVES et al., 2018).

Visto que esses três novos sistemas apresentam características distintas de *design*, ligas, velocidade, torque e padrões de movimento (UREYEN et al., 2019), avaliações sobre seu impacto no preparo de canais radiculares devem ser realizadas, não só no que refere à abordagem mecânica (MARINHO et al., 2015; UREYEN et al., 2019), mas também e não menos importante, quanto à capacidade de desinfecção intracanal e de extrusão apical de debris e bactérias, uma vez que a evidência de suas habilidades em relação a esses fatores é incipiente.

Além disso, até o presente momento nenhum estudo comparou simultaneamente a eficácia desses três sistemas de instrumentação quanto a essas análises. A literatura apresenta relatos que investigaram os sistemas antecessores correspondentes Hyflex CM (KOÇAK et al., 2013, NEVARES et al., 2015; AZIM et al., 2018; USLU et al., 2018; UREYEN et al., 2019) e Reciproc (BÜRKLEIN; BENTEN; SCHÄFER, 2014; DE-DEUS et al., 2014; MARINHO et al., 2015; NEVES et al., 2016; VASCONCELOS et al., 2017; ALVES et al., 2018; XAVIER et al., 2018), mas é escassa para os novos sistemas HyFlex EDM e Reciproc Blue.

Quanto à extrusão apical, há apenas um estudo que avaliou a quantidade de debris extruídos promovida pelos sistemas Reciproc Blue e Hyflex EDM (USLU et al., 2018); e um outro, que comparou Hyflex EDM com outros sistemas, porém sob a perspectiva de retratamentos endodônticos (AZIM et al., 2018).

Para desinfecção de canais radiculares, uma pesquisa investigou HyFlex EDM em compração a outros sistemas (UREYEN et al., 2019), enquanto que para análise de extrusão bacteriana, ainda não há relatos que avaliem e/ou comparem Hyflex EDM e Reciproc Blue.

A comparação entre os diferentes sistemas de instrumentação pode ser benéfica, para que o melhor instrumento possa ser selecionado e utilizado na terapia endodôntica, em busca de efetiva desinfecção intracanal e controle da extrusão apical e assim, evitar a ocorrência de *flare-up*, dor pós-operatória e retardo na cura dos tecidos perirradiculares.

A hipótese nula é de que não há diferença entre os três sistemas mecanizados rotatórios e recíprocante testados quanto à desinfecção intracanal e extrusão apical de debris e bactérias.

***P**roposição*

O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar a desinfecção de canais radiculares, a extrusão apical de debris e a extrusão apical bacteriana promovidas pelo preparo biomecânico com diferentes sistemas mecanizados de NiTi rotatórios (BioRace, Hyflex EDM) e recíprocante (Reciproc Blue), em incisivos inferiores permanentes, previamente contaminados com *Enterococcus faecalis*.

A desinfecção intracanal foi avaliada por meio de análise microbiológica e imagens de MEV. A extrusão apical bacteriana também foi avaliada mediante análise microbiológica, enquanto que a análise da extrusão apical de debris carregados pela solução irrigante, foi feita mediante pesagem e determinação de volume do material extruído pelo forame.

Materiais e Métodos

Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil – FORP/USP (número CAAE: 61743516.5.0000.5419).

Seleção e padronização da amostra

Incisivos inferiores permanentes de humanos, cedidos pelo Biobanco de Dentes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, foram armazenados em solução aquosa de timol 0,1%, em geladeira a 9°C, para mantê-los hidratados e isentos de proliferação bacteriana, até o momento de sua utilização. Foram lavados em água corrente por 24 horas, para eliminação de qualquer traço de solução de timol presente em sua estrutura, e secos com jatos de ar. Em seguida, tiveram suas superfícies radiculares limpas por meio de raspagem com ultrassom (Profi II Ceramic, Dabi Atlante Ltda, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e foram armazenados em estufa (37°C, 100% umidade relativa) por 72 horas, para reidratação.

Para a seleção e padronização da amostra, inicialmente 80 incisivos inferiores foram analisados por meio de lupa estereoscópica digital (Leica M165 C, Wetziar, Alemanha) com aumento de 25 vezes, a fim de observar a completa formação radicular, canal único, ausência de trincas, fraturas e reabsorção externa (Figura 1).

Tomadas radiográficas foram realizadas, no sentido vestibulo-lingual e próximo-proximal, com Sistema Radiográfico Digital IDA (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) com tempo de exposição de 0,1 segundos e distância objeto sensor radiográfico de 10 cm. As radiografias foram analisadas com auxílio de Software Prolmage Dental Imaging (Dent-X, Elmsford, NY, EUA) (Figura 2).

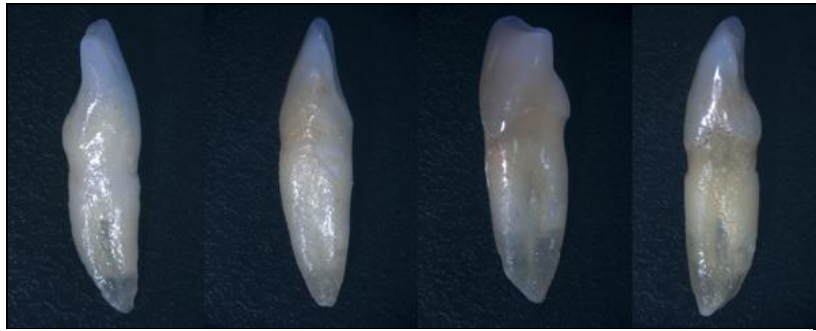


Figura 1. Análise de incisivos inferiores por meio de lupa estereoscópica, para seleção da amostra.

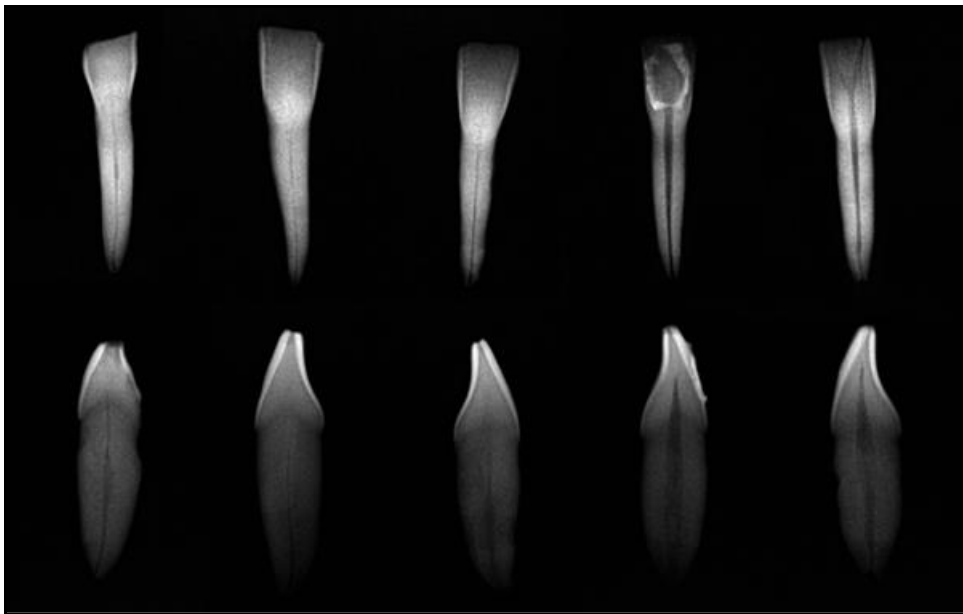


Figura 2. Radiografias digitais de incisivos inferiores para seleção da amostra.

Foram selecionados da amostra inicial, os incisivos inferiores que apresentaram raízes completamente formadas, ausência de calcificações, reabsorções internas, tratamento endodôntico prévio, trincas, fraturas, e quaisquer irregularidades que pudessem interferir na metodologia.

Foi realizado acesso cirúrgico da câmara pulpar dos dentes selecionados, com brocas carbide esférica nº 2 (Jet, Labordental Ltda., São Paulo, SP, Brasil) e endo-Z (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) acopladas a uma peça de mão em alta velocidade. As coroas foram mantidas para que câmaras acessadas fossem utilizadas

como reservatório para a contaminação dos canais radiculares com uma suspensão de *Enterococcus faecalis*.

Os canais foram submetidos à irrigação, aspiração e inundação com água destilada e deionizada, com uso de seringa plástica descartável (Ultradent Products Inc., South Jordan, EUA) e agulha Endo-Eze (Ultradent Products Inc., Indaiatuba, Brasil).

A exploração dos canais foi realizada com uma lima tipo K #10 de aço inoxidável (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça), cuidadosamente introduzida no canal radicular até que sua ponta coincidissem com o forame apical. Ao encontrar essa medida, foi subtraído 1 mm para estabelecimento do comprimento de trabalho (CT) de cada dente.

O tamanho mínimo de constrição do diâmetro anatômico apical inicial foi controlado através do avanço de lima tipo K #20 de aço inoxidável (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) para o CT. Se esse instrumento se estendesse para além do forame apical, o dente era excluído.

Indicador biológico

A cepa padrão bacteriana utilizada neste estudo foi *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Inicialmente o micro-organismo foi descongelado e reativado em *Brain Heart Infusion Agar* – BHIA (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda. Mumbai, MH, Índia). Uma colônia foi transferida para um tubo de ensaio com 10mL do caldo *Brain Heart Infusion* – BHI (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda. Mumbai, MH, Índia), que foi incubado a 37°C por 24 horas em estufa microbiológica (De Leo, Porto Alegre, RS, Brasil).

A cultura recente foi centrifugada a 4200g por 5 minutos. O *pellet* resultante foi lavado duas vezes em PBS (*Phosphate Buffered Saline*) e a concentração celular foi ajustada em espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific Multiskan Spectrum,

MA, EUA) em comprimento de onda de 625nm a um valor de absorvância de 0,15, com objetivo de atingir a concentração equivalente a $\sim 10^8$ UFC/mL. A confirmação da concentração celular foi realizada através de semeadura em placa de Petri com BHIA.

Confecção da plataforma experimental e esterilização dos espécimes

Para compor a plataforma experimental foram utilizados frascos com tampas rosqueáveis de plástico. Com um instrumento aquecido foi criado um furo no centro da tampa, no qual o dente foi inserido sob pressão, e fixado ao nível da junção amelocementária (Figura 3A), de modo que ficasse preso para evitar qualquer movimento que pudesse interferir na padronização do procedimento de preparo biomecânico (TANALP; GUNGOR, 2014).

Dois revestimentos de esmalte de unhas foram aplicados na superfície externa de todas as raízes dos dentes, para prevenir a microinfiltração bacteriana através de canais laterais.

A tampa de plástico com o dente já fixado foi então encaixada na abertura do frasco para fechá-lo. Sendo assim, a parte apical da raiz foi suspensa dentro do frasco (Figura 3A), que atuou como um recipiente para o meio de cultura (BHI) durante o período de contaminação dos canais radiculares, e como coletor para o material extruído através do forame durante o preparo biomecânico.

As plataformas experimentais, ou seja, dentes acoplados aos frascos de vidro (figura 3B), foram enumerados e esterilizados em autoclave a 121°C, 15 libras de pressão por 15 minutos. Para assegurar a esterilização, a plataforma foi incubada a 37°C por 48hs, para observar se decorrido esse período de tempo, nenhum crescimento bacteriano ocorreu.

Uma lima tipo K #15 estéril foi inserida no canal radicular 1 mm além do forame, ou seja, apenas 1 mm de instrumento foi extruído, para criar um orifício no

esmalte de unhas que estava encobrindo o forame e permitir permeabilidade e padronização do diâmetro do forame apical.

Contaminação dos espécimes com *Enterococcus Faecalis*

Para contaminação dos espécimes, cada frasco foi preenchido com volume de BHI necessário (~10 mL) para que, ao encaixar a tampa de plástico na abertura do frasco para fechá-lo, o forame apical ficasse em contato com o meio de cultura.

Foi inserido 10 µL do inóculo bacteriano (~10⁸ UFC/mL) nos canais radiculares, por meio de micropipetas (Figura 4). As coroas dentárias foram seladas com papel alumínio e as plataformas experimentais foram vedadas e incubadas em estufa microbiológica a 37°C por 21 dias, com trocas por frascos contendo BHI estéril a cada 2 dias, formando novamente a plataforma experimental. Esse processo foi feito para evitar a saturação do meio de cultura por micro-organismos e metabólitos.

O crescimento bacteriano foi verificado pela presença de turbidez do meio de cultura e a confirmação da pureza, com auxílio de morfologia macroscópica e microscópica.

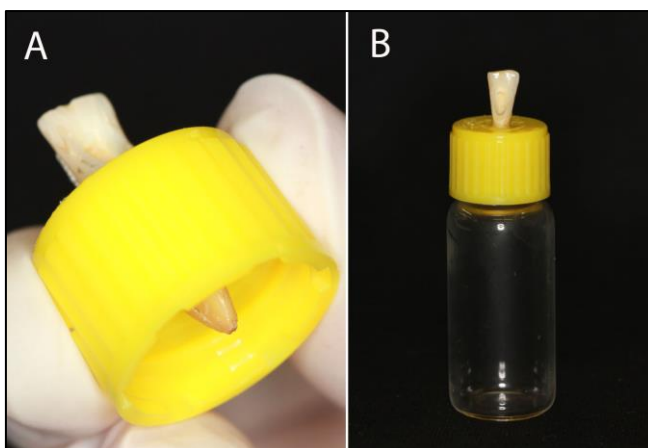


Figura 3. A) Dente fixado à tampa de plástico. B) Plataforma experimental: tampa encaixada no frasco de vidro, mantendo a parte apical radicular suspensa.



Figura 4. Inoculação de *E. faecalis* no canal radicular.

Todo o experimento microbiológico foi realizado em condições assepsia, em cabine de segurança biológica de classe II (Pachane, Pa 400-ECO, Piracicaba, SP, Brasil).

Delineamento experimental

Os espécimes foram numerados e randomicamente distribuídos aleatoriamente (<http://www.random.org>) em 3 grupos experimentais (n=9), de acordo com os sistemas mecanizados testados, e grupos de controle positivo (n=3) e negativo (n=3). Os grupos experimentais foram: Grupo I BR - Sistema BioRace; Grupo II HE - Sistema Hyflex EDM, Grupo III RB - Sistema Reciproc Blue (Figura 5).

No grupo controle positivo, três dentes foram previamente contaminados, mas não foram instrumentados, para verificar a viabilidade do biofilme após 21 dias. Como controle negativo, três dentes que não foram infectados, foram instrumentados com um dos três sistemas. Todo o ensaio foi realizado em três momentos distintos, a fim de garantir reprodutibilidade metodológica.

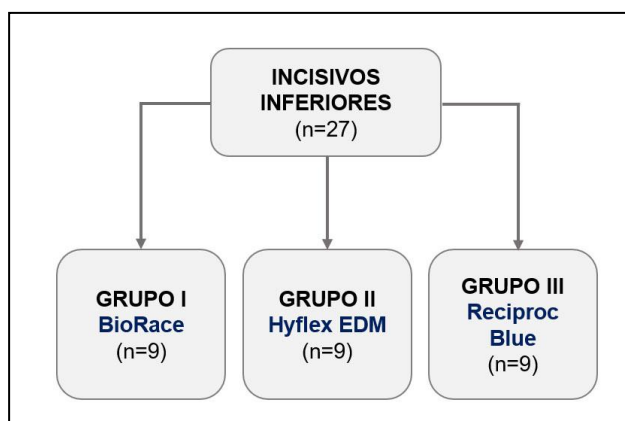


Figura 5. Fluxograma representativo da distribuição dos grupos experimentais.

Pesagem inicial para análise da extrusão apical de debris

Decorrido o período de formação do biofilme e anteriormente ao preparo biomecânico, frascos de vidro estéreis foram submetidos à pesagem inicial (P1) em

balança de precisão (Mettler Toledo, Columbus, Ohio, EUA) (figura 6A), que foi repetida por 3 vezes, para que um valor médio fosse obtido e se obtivesse maior precisão (TANAL; GUNGOR, 2014). Em seguida foram acoplados às tampas rosqueáveis com os dentes fixados para servirem de coletores, compondo novamente a plataforma experimental. Cada frasco foi ventilado com uma agulha de calibre 27 injetada na tampa de plástico, para igualar a pressão do ar dentro e fora do frasco durante o preparo biomecânico (figura 6B) (MYERS; MONTGOMERY, 1991).

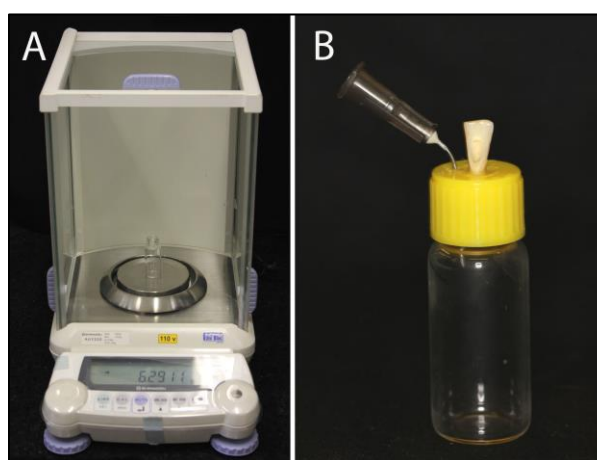


Figura 6. A) Pesagem inicial (P1) do frasco de vidro coletor. B) Plataforma experimental ventilada para igualar a pressão.

Análise microbiológica inicial

Foi efetuada desinfecção das coroas dentárias com o uso sequencial de peróxido de hidrogênio a 6% e hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2,5%. Cones de papel absorvente esterilizados tamanho #20 (TANARI, Tanarian Industrial Ltda, Macapuru, Brasil) foram introduzidos no canal radicular de todos os espécimes e mantidos por 1 minuto, para absorver o fluido do canal e assim ser realizada a primeira coleta microbiológica (CM1) (Figura 7A), evitando tocar os cones de papel nas paredes da cavidade de acesso.

Cada amostra foi coletada com três cones de papel absorvente, que foram posteriormente transferidos para microtubos, contendo 1 mL de tiosulfato de sódio em concentração de 5% (Dinâmica, Diadema, SP, Brasil) para que este meio atuasse como neutralizador do NaOCl.

As amostras passaram pelo agitador de tubos (Phoenix, Araraquara, SP, Brasil) e a suspensão resultante no microtubo foi adicionada à 9 mL de caldo Letheen e incubados a 37°C por 24 horas (Figura 7B). O crescimento bacteriano foi analisado pela turbidez do meio de cultura, para determinar a ausência ou presença de bactérias, e analisada qualitativamente utilizando espectrofotômetro, em comprimento de onda de 500nm. A confirmação da pureza da cultura foi feita por semeadura em placa de Petri com BHIA (Figura 8A e B).

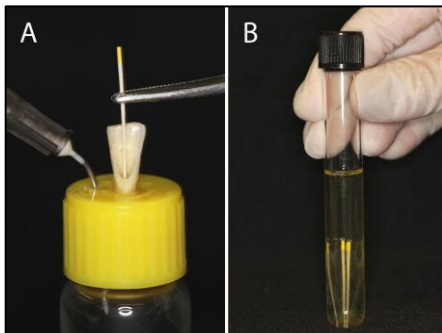


Figura 7. A e B) Primeira coleta microbiológica (CM1).

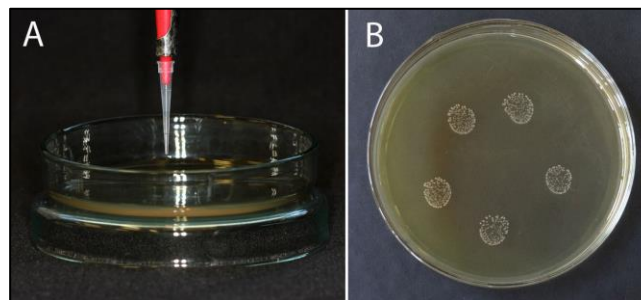


Figura 8. Semeadura em placa de Petri

Preparo biomecânico dos canais radiculares

A instrumentação dos canais radiculares foi realizada usando solução de NaOCl a 1% como solução irrigante, através de uma seringa plástica descartável (Ultradent Products Inc., Indaiatuba, SP, Brasil) e com uma agulha Endo Eze (Ultradent Products Inc., Indaiatuba, SP, Brasil) inserida o mais profundamente no canal sem que este oferecesse resistência, através de um movimento de entrada e saída para um melhor fluxo.

Foi utilizado um volume total constante de 7 mL de solução irrigante por canal para todos os espécimes, em virtude da diferente quantidade de instrumentos dos sistemas mecanizados testados em cada grupo (Figura 9). Foram realizadas irrigação/aspiração e inundação a cada troca de instrumento; e para o grupo III RB (Reciproc Blue), a cada avanço de 3 mm do instrumento. O tempo total médio que o irrigante permaneceu no canal em cada grupo foi de cerca de 5 min.

Todos instrumentos foram introduzidos nos canais radiculares sem pressão, em movimentos de bicada até atingirem o CT. Após três movimentos de entrada e saída, o instrumento era removido do canal radicular e a parte de trabalho era limpa com gaze estéril. Em seguida, uma lima tipo K #15 era introduzida até o CT para verificar a patência do canal, ou seja, a permeabilidade do canal foi mantida ao longo de todo procedimento. Para o instrumento Reciproc Blue, o procedimento era feito com avanços de 3 mm em direção apical, seguidos da verificação da patência, e esta sequência era então repetida mais duas vezes, até que o instrumento alcançasse o CT (Figura 9).

Caso fosse notada alguma resistência dos instrumentos, que exigisse mais pressão apical, o instrumento era removido e sua parte de trabalho era limpa com gaze estéril (AYDIN et al., 2017). Em todos os grupos, após a preparação de 3 espécimes, era utilizado um novo conjunto de instrumentos.

O acionamento mecânico dos instrumentos foi realizado com contra ângulo X-Smart Plus 6:1 modelo MF6 (Denstply Maillefer, Ballaigues, Suíça) acoplado à peça de mão motorizada modelo EM09M (Denstply Maillefer, Ballaigues, Suíça), que estava acoplada à unidade de controle X-Smart Plus modelo NE274/NE298 (Denstply Maillefer, Ballaigues, Suíça) (Figura 10). Todos instrumentos foram utilizados seguindo instruções de seus respectivos fabricantes.

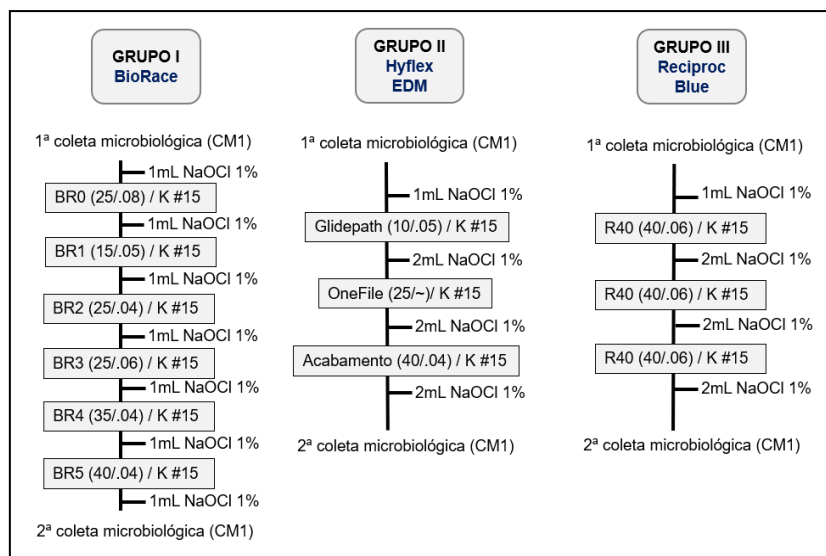


Figura 9. Fluxograma representativo do protocolo de preparo biomecânico dos grupos experimentais.



Figura 10. Motor elétrico utilizado para acionamento dos instrumentos testados

Grupos experimentais

Grupo I BR (BioRace)

Os canais radiculares foram instrumentados com sistema rotatório BioRace (FKG Dentaire, Swiss Dental Products, La Chaux-de-Fonds, Suíça), utilizando-se a seguinte sequência: BR0 (25/.08), BR1 (15/.05), BR2 (25/.04), BR3 (25/.06), BR4 (35/.04) e BR5 (40/.04) (Figura 11A), em movimento de rotação contínua, com 500 rpm de velocidade e torque de 1 Ncm, de acordo com recomendações do fabricante.

Grupo II HE (Hyflex EDM)

Os canais radiculares foram instrumentados com sistema rotatório Hyflex EDM (Coltene/Whaledent, Altstätten, Suíça), utilizando-se a seguinte sequência: lima *Glidepath* (10/.05); instrumento único *OneFile* (25/~); e lima de acabamento (40/.04) (Figura 11B), em movimento de rotação contínua com velocidade de 300 rpm e torque de 1.8 Ncm para o primeiro instrumento e 400 rpm e 2.5 Ncm para os demais, de acordo com recomendações do fabricante.

Grupo III RB (Reciproc Blue)

Os canais radiculares foram instrumentados com sistema recíprocante Reciproc Blue (VDW GmbH, Munique, Alemanha). O instrumento único utilizado foi o R40 (40/.06) (Figura 11C), em movimento recíprocante, com os ângulos de deslocamento e torque, automaticamente predefinidos pelo motor elétrico X-Smart Plus para este sistema.



Figura 11. A) Sistema BioRace. B) Sistema Hyflex EDM. C) Instrumento único Reciproc Blue.

Grupos controle positivo e negativo

Três dentes adicionais que foram infectados, porém não foram instrumentados, serviram controles positivos da contaminação. Outros três dentes adicionais não foram infectados e foram instrumentados com um dos três sistemas diferentes, conforme detalhado anteriormente, e usados como controles negativos.

Análise microbiológica da desinfecção intracanal

Após o preparo biomecânico dos canais radiculares, foi realizada uma segunda coleta microbiológica (CM2) com cones de papel absorvente esterilizados tamanho #40.04, para os grupos I BR e II HE, e tamanho #40.06, para o grupo III RB. A CM2 foi efetuada da mesma maneira conforme descrito para a CM1 (Figura 12A e B).

O crescimento bacteriano foi verificado pela ocorrência de turbidez do meio de cultura, que indicou a presença ou ausência de bactérias nos canais radiculares após o preparo biomecânico, seguido pela confirmação de pureza da cultura.

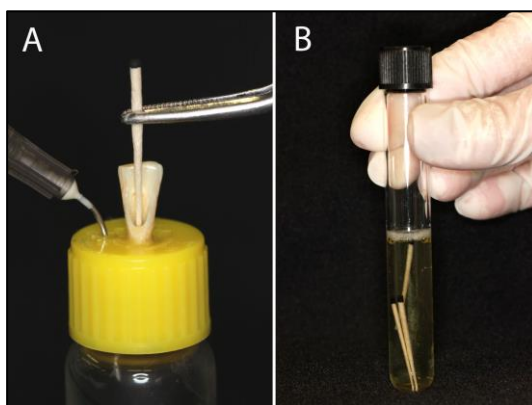


Figura 12. A e B) Segunda coleta microbiológica (CM2).

Análise da extrusão apical de debris e bactérias

Os frascos de vidro que serviram como coletores de material extruído durante o preparo e compuzeram as plataformas experimentais, foram desacoplados das tampas rosqueáveis com os dentes fixados e novamente submetidos à pesagem (P2) da mesma forma e na mesma balança de precisão utilizada na P1 (Figura 13A). O peso de cada frasco contendo debris e solução irrigante foi registrado.

A terceira coleta microbiológica foi então realizada (CM3) para análise da extrusão bacteriana. Uma quantidade de 1 mL da suspensão de material extruído pelo forame foi coletado (Figura 13B) e inserida em tubos de ensaio contendo 9 mL de caldo Lethen com tiosulfato de sódio a 0,5% (Figura 13C). A verificação do

crescimento bacteriano e confirmação da pureza da cultura foram realizadas, do mesmo modo como já descrito.

Foi obtida a massa do material extruído pela diferença entre a massa do frasco de vidro antes (P1) e após (P2) a coleta do material. O volume do material extruído foi aferido por meio de micropipetas (Figura 13D).

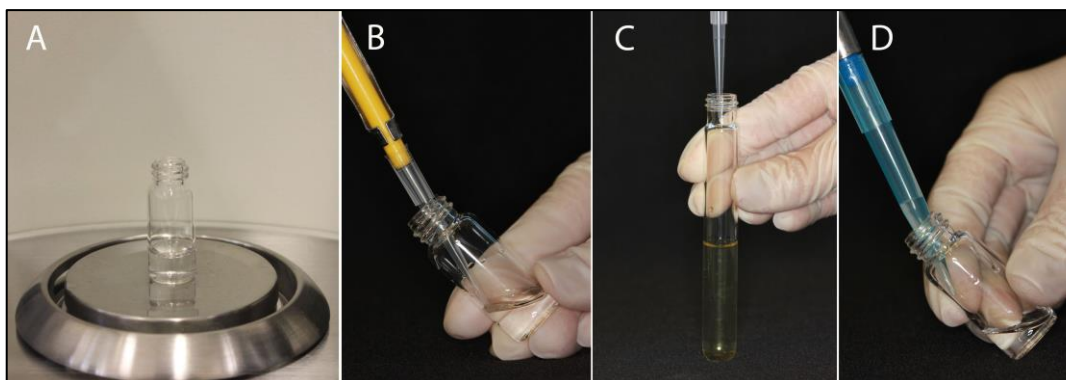


Figura 13. A) Pesagem do material extruído. B e C) Terceira coleta microbiológica (CM3). D) Determinação do volume do material extruído.

Análise dos dados

A análise estatística foi realizada com auxílio do programa SPSS 17.0 for Windows (LEAD Technologies, Inc., Chicago, IL, EUA). A verificação da distribuição dos dados foi determinada pelo teste de Shapiro-Wilk. Análise de Variância um fator foi realizada para verificação da presença de biofilme em todos os grupos experimentais na CM1. Para análise da extrusão apical de debris foi realizado teste de Kruskal-Wallis; e para desinfecção intracanal e extrusão bacteriana, teste Qui-quadrado de Pearson. Para todas as análises foi considerado o nível de significância de 0,05.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Após amostragem bacteriana, os espécimes dos grupos experimentais e do grupo controle positivo, foram fixados em formol tamponado a 10% por 1 semana. Em seguida, foram fracionados longitudinalmente e desidratados por imersão em

soluções de etanol (70%, 95% e 100%). As paredes internas dos canais radiculares foram avaliadas topograficamente por um microscópio eletrônico de varredura (JEOL, JSM-6510LV, Japão) em ampliações de 3000x, 5000x e 7500x. Cada espécime foi fotografado em locais aleatórios ao longo do lúmen do canal, nos três terços radiculares: cervical, médio e apical (UREYEN et al., 2019).

*R*esultados

Bactérias foram detectadas em todas as coletas microbiológicas iniciais (CM1) dos 27 espécimes. As medidas de absorvância da CM1 consistiram em valores numéricos, expressos na faixa de comprimento de onda da radiação eletromagnética de 600nm, que estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Valores (600nm) referentes à absorvância da CM1.

Grupo I BR BioRace	Grupo II HE HyFlex EDM	Grupo III RB Reciproc Blue
0,1606	0,1553	0,145
0,1368	0,1549	0,1437
0,1674	0,1488	0,1444
0,1421	0,1175	0,1605
0,1457	0,1459	0,1497
0,1678	0,1404	0,1323
0,1612	0,1447	0,1014
0,1548	0,1349	0,1311
0,1229	0,0961	0,0972
0,1548 ± 0,015	0,1447 ± 0,019	0,1437 ± 0,02

Os dados foram analisados estatisticamente por meio de Análise de Variância um fator, com nível de significância de 5%. Os resultados obtidos estão representados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados da Análise de Variância um fator para CM1.

Fontes de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Valor de f	Valor de p
Entre os grupos	2	0,001	0,001	2,046	0,151
Dentro dos grupos	24	0,009	0		
Total	26	0,010			

A Análise de Variância não identificou diferença estatística ($P=0,151$) entre os grupos, o que demonstra a viabilidade do biofilme em todos os grupos após o período de 21 dias de contaminação dos espécimes com *Enterococcus faecalis*.

Desinfecção intracanal e extrusão bacteriana

Os dados referentes à presença de bactérias, caracterizada pela turvação do meio de cultura das coletas microbiológicas realizadas anteriormente (CM1) e após (CM2) o preparo biomecânico, e de amostras do material extruído coletado (CM3), foram analisados por meio de Teste Qui-quadrado de Pearson, com nível de significância de 5%. Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 3 e Figura 14.

Tabela 3. Resultados dos Testes Qui-quadrado de Pearson referentes às coletas microbiológicas para desinfecção intracanal (CM2) e extrusão bacteriana (CM3).

Grupos	Coletas microbiológicas (presença de bactérias)					
	CM1		CM2		CM3	
	sim	não	sim	não	sim	não
Grupo I BR	9 (100%)	0 (0%)	2 (22,2%)	7 (77,8%)	6 (33,3%)	3 (66,7%)
Grupo II HE	9 (100%)	0 (0%)	3 (33,3%)	6 (66,7%)	6 (33,3%)	3 (66,7%)
Grupo III RB	9 (100%)	0 (0%)	6 (66,7%)	3 (33,3%)	6 (33,3%)	3 (66,7%)
Valor de p	-		0,136		0,100	

A presença de bactérias foi verificada na CM1, CM2 e CM3. A incidência de turvação do meio de cultura foi constante para todos os grupos na CM1. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos quanto à desinfecção intracanal ($p=0,136$). A extrusão bacteriana foi promovida por todos os sistemas mecanizados testados, mas não foi encontrada diferença entre os grupos ($p=0,100$). Nenhum crescimento bacteriano foi observado nas coletas dos espécimes de controle negativo, enquanto que no grupo controle positivo foram detectadas bactérias em todos.

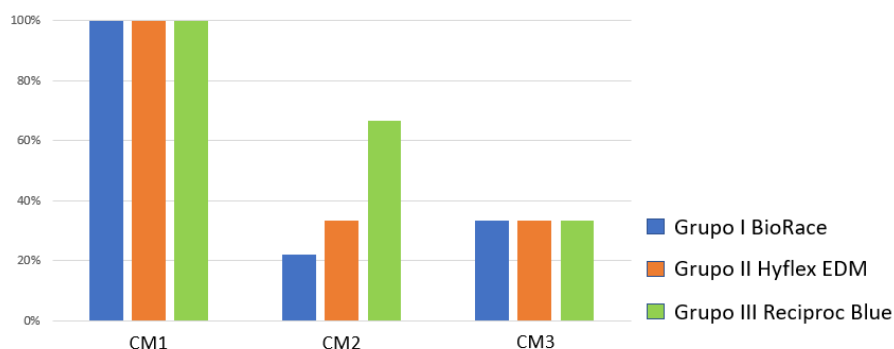


Figura 14. Gráfico do percentual de bactérias presentes nos canais radiculares dos três grupos experimentais.

Extrusão apical de debris

Os dados experimentais da extrusão apical de debris carregados pela solução irrigante estão descritos na Tabela 4. Quanto ao peso do material extruído através do forame, os números correspondem às massas finais, em gramas, da diferença entre as massas dos frascos de vidro obtidas na pesagem inicial (P1) e final (P2). Quanto ao volume, correspondem às medidas em μL do material extruído coletado.

Tabela 4. Valores referentes à extrusão apical de debris carregados pela solução irrigante.

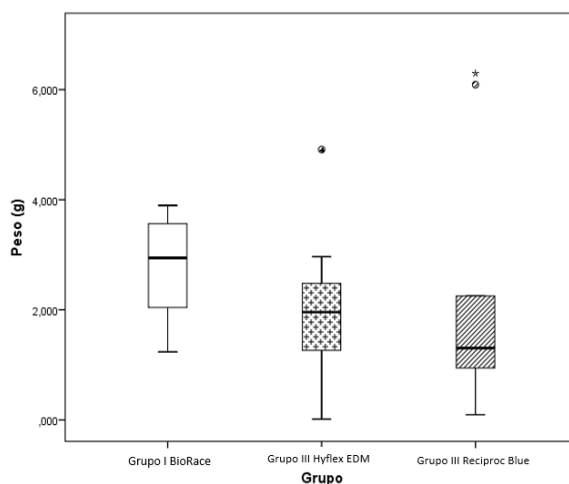
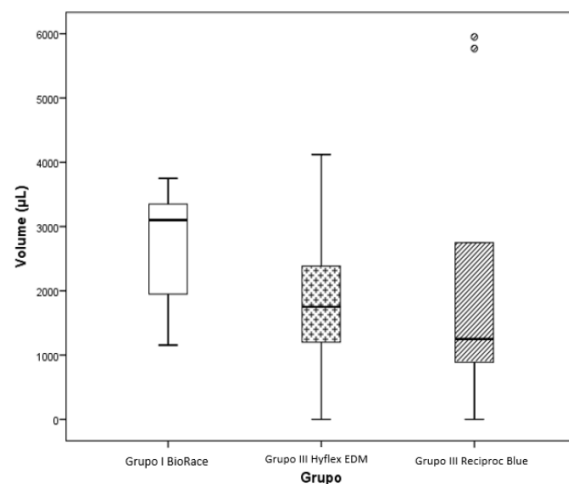
Grupo I BR		Grupo II HE		Grupo III RB	
BioRace		HyFlex EDM		Reciproc Blue	
Peso(g)	Volume(μL)	Peso(g)	Volume(μL)	Peso(g)	Volume(μL)
1,237	1155	1,67	1550	2,253	2047
1,92	1950	1,958	1750	0,094	0
3,288	3100	2,964	2840	1,92	2750
3,564	3335	2,311	2180	6,295	5950
2,432	1950	1,262	1200	6,09	5770
2,043	2300	2,481	2385	0,543	620
3,584	3350	0,016	0	1,305	1250
2,943	3750	4,912	4120	0,942	890
3,895	3660	0,819	850	1,039	910
$2,943 \pm 0,9$	$3100 \pm 913,4$	$1,958 \pm 1,4$	$1750 \pm 1197,2$	$1,305 \pm 2,3$	$1250 \pm 2200,4$

Como os dados apresentaram distribuição não normal para o Grupo III RB, foram então analisados estatisticamente por meio de teste de Kruskal-Wallis, para comparação dos grupos, com nível de significância de 5%. Os resultados obtidos estão representados na Tabela 5 e nas Figuras 15 e 16.

Tabela 5. Resultados do teste de Kruskal-Wallis para Peso (mg) e Volume (uL) do material extruído.

	Grupo	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1° Quartil	3° Quartil
Peso	GI	2.767	2.943	0.906	1.237	3.895	1.982	3.574
	GII	2.044	1.958	1.401	0.016	4.912	1.041	2.723
	GIII	2.276	1.305	2.314	0.094	6.295	0.743	4.172
Volume	GI	2728	3100	913	1155	3750	1950	3505
	GII	1875	1750	1197	0	4120	1025	2613
	GIII	2243	1250	2200	0	5950	755	4260

A extrusão apical de debris carregados pela solução irrigante ocorreu em todos os grupos. O Teste de Kruskal-Wallis não identificou diferenças estatísticas entre os grupos tanto para peso ($P=0,641$) quanto para volume ($p=0,509$).

**Figura 15.** Gráfico “Box-and-whisker plot” mostrando o peso do material extruído para os três grupos.**Figura 16.** Gráfico “Box-and-whisker plot” mostrando o volume do material extruído para os três grupos.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise por MEV demonstrou que as paredes do canal radicular foram densamente colonizadas por *E. faecalis*. A presença de estrutura de biofilme maduro, sobre as paredes do canal radicular, confirmou a viabilidade do biofilme bacteriano após 21 dias de contaminação no grupo controle positivo (Figura 17).

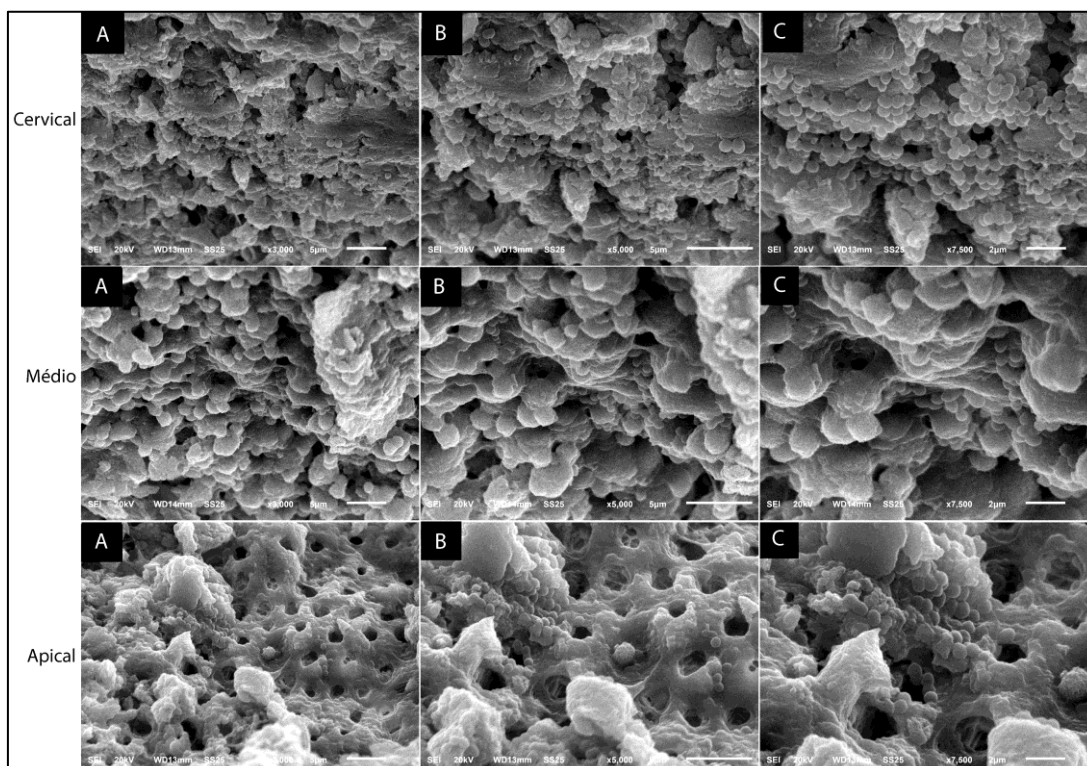


Figura 17. Imagens de MEV do grupo controle positivo nos terços cervical, médio e apical, em aumentos A) X3000, B) X5000x e C) X7500.

As imagens em MEV, para análise qualitativa do efeito do preparo biomecânico realizado com os três sistemas testados sobre a desinfecção intracanal, revelaram a presença de *E. faecalis* nas paredes do canal radicular, formando estruturas semelhantes a biofilme em todos os grupos. As imagens dos terços cervical, médio e apical do Grupo I BR (Figura 18), Grupo II HE (Figura 19) e Grupo III RB (Figura 20) em aumentos X3000, X5000x e X7500, suportam os dados obtidos na CM2.

BioRace

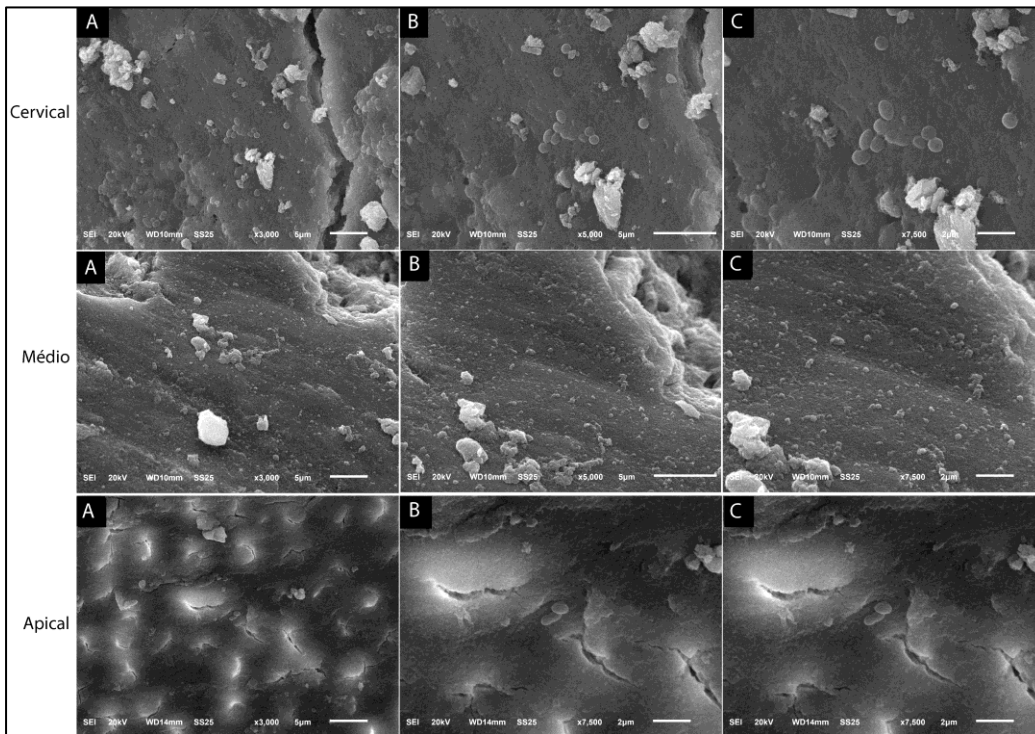


Figura 18. Imagens de MEV do Grupo I BR nos terços cervical, médio e apical, em aumentos A) X3000, B) X5000 e C) X7500.

Hyflex EDM

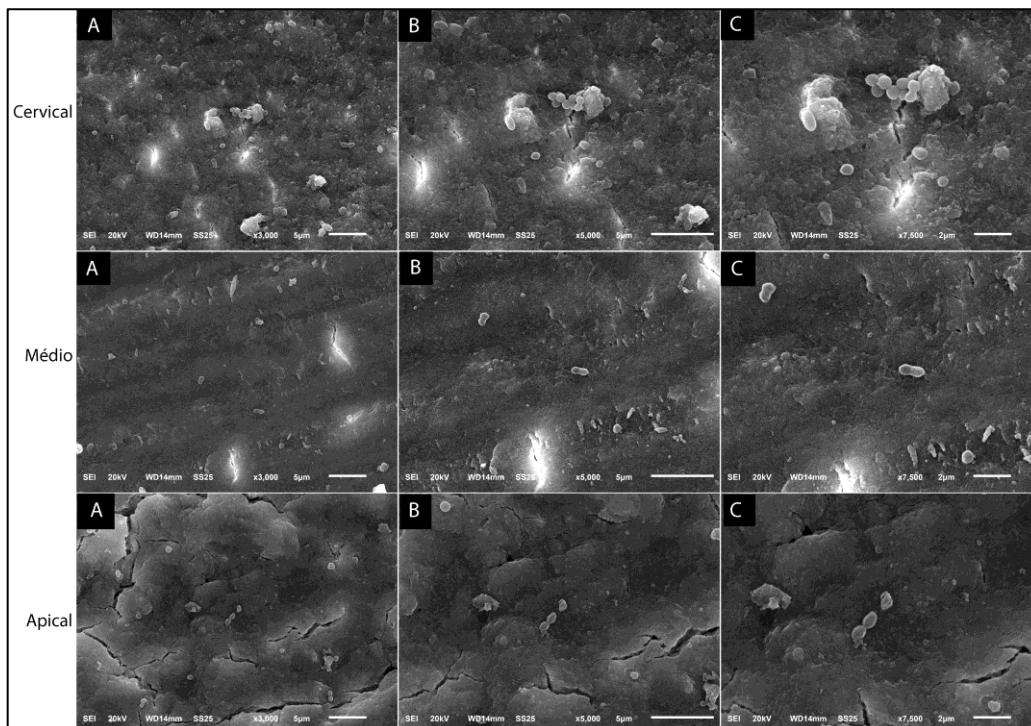


Figura 19. Imagens de MEV do Grupo II HE nos terços cervical, médio e apical, em aumentos A) X3000, B) X5000 e C) X7500.

Reciproc Blue

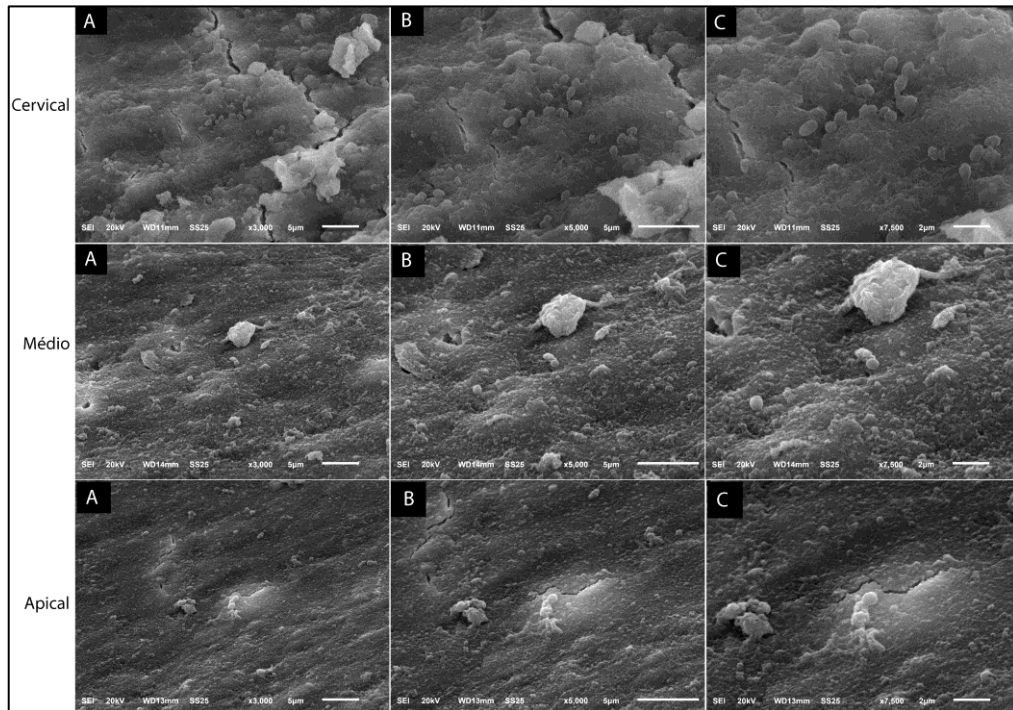


Figura 17. Imagens de MEV do Grupo III RB nos terços cervical, médio e apical, em aumentos A) X3000, B) X5000x e C) X7500.

*D*iscussão

A evolução da instrumentação mecanizada na Endodontia tem objetivado melhorar a capacidade dos instrumentos endodônticos em modelar e limpar o sistema de canais radiculares com facilidade e praticidade (MACHADO et al., 2017).

Além de boa modelagem e limpeza, o controle de infecção e a prevenção de extrusão apical configuram importantes objetivos do preparo biomecânico durante o tratamento endodôntico, principalmente em dentes infectados (ALVES et al., 2018). Dessa forma, se faz necessária a realização de estudos que analisem o comportamento dos instrumentos para que tais objetivos sejam alcançados.

Para este experimento, foi desenvolvida e utilizada uma plataforma experimental baseada no método experimental de Myers e Montgomery (1991), previamente descrito para a avaliação de extrusão apical, que foi adaptado de acordo com as necessidades metodológicas deste estudo.

Assim como no método de Myers e Montgomery (1991), a plataforma experimental deste estudo não permite que o operador veja o forame apical enquanto prepara os dentes, com o intuito de simular condições clínicas reais (MYERS; MONTGOMERY, 1991; BÜRKLEIN; BENTEN; SCHÄFER, 2014) e prevenir viés por parte do operador (TANALP; GÜNGÖR, 2014).

Como não só debris, mas também solução irrigante pode ser extruída apicalmente, geralmente o líquido extruído e coletado é evaporado por meio de armazenamento em estufa (TANALP; GÜNGÖR, 2014). Porém, no presente estudo, esta etapa não foi realizada. Considerou-se para a análise de extrusão apical, os debris extruídos através do forame carregados pela solução irrigante, ambos pesados em conjunto e não separadamente, pois parte do material que extruiu através do forame foi colhida também para análise microbiológica da extrusão bacteriana (CM3).

Adicionalmente, o procedimento de secagem das amostras é questionável por alguns motivos. Pode apresentar variações de acordo com o tempo, constância da umidade e temperatura do ambiente de armazenamento, o que torna difícil garantir que uma quantidade idêntica de evaporação ocorra para todas as amostras; além da possibilidade de aumento no peso, uma vez que pode haver formação de cristais de hipoclorito de sódio (NaOCl) após a evaporação do líquido (TANALP; GÜNGÖR, 2014).

A avaliação de canais radiculares contaminados por meio de cultura bacteriana é um método claramente definido (XAVIER et al., 2018) e o micro-organismo de escolha para contaminação foi a espécie *Enterococcus faecalis*, porque sua cultura pura é amplamente utilizada em estudos com esta finalidade (ALVES et al., 2012; DAGNA et al., 2012; MACHADO et al., 2013 SIQUEIRA et al., 2013; TINOCO et al., 2014; AKSEL et al., 2017; SABERI et al., 2017; ALVES et al., 2018; SAFFARI et al., 2018; USLU et al., 2018; GAZZANEO et al., 2019; ODA et al., 2019), e por ser de fácil cultivo, com capacidade de colonizar canais e formar biofilmes em condições laboratoriais (GEORGE; KISHEN; SONG, 2005; LIU et al., 2010).

Além disso, tendo em vista que se trata de uma espécie resistente a procedimentos endodônticos (VIVACQUA-GOMES et al. 2005; LIU et al., 2010; DAGNA et al., 2012; ODA et al., 2019), se uma técnica de preparo biomecânico mostra-se eficiente para a redução ou eliminação de *E. faecalis* dos canais radiculares, pode ser útil para a eliminação de outros micro-organismos menos resistentes (DAGNA et al., 2012).

No presente estudo não foi possível executar a quantificação de bactérias pela técnica de contagem bacteriana a partir de cultura (CFU – do inglês *Colony Forming Unit*), mas apenas confirmar a presença ou ausência de bactérias nos canais

radiculares após o preparo biomecânico, através da turvação do meio, seguida de confirmação da pureza da cultura por semeadura em placa de Petri com BHIA.

Possivelmente, isso ocorreu devido à utilização da solução irrigante NaOCl durante o preparo biomecânico dos espécimes, pois embora *E. faecalis* seja uma espécie de fácil cultivo, ela pode entrar no estado viável mas não cultivável quando está sob estresse; ou ocorrer em níveis muito baixos, o que pode fazer com que passe despercebida pela cultura. E ainda, a etapa de diluição necessária para contagem de culturas pode gerar viés, o que pode tornar a quantificação bacteriana imprecisa (ALVES et al., 2018).

Apesar da quantidade de debris extruídos apicalmente e do seu conteúdo bacteriano patogênico estarem associados à reação inflamatória aguda nos tecidos perirradiculares (CAVIEDES-BUCHELI et al., 2016), foi relatado que a extensão da resposta inflamatória parece estar mais relacionada à virulência bacteriana, e não à contagem de bactérias (ELMSALLATI ; WADACHI; SUDA, 2009; CABREIRA et al., 2019.); e que o cálculo do número de bactérias extruídos pelo forame apical permanece incerto em relação à resposta inflamatória (USLU et al., 2018).

A quantificação de bactérias foi possível em experimentos anteriores, mesmo mediante irrigação antimicrobiana durante o preparo, provavelmente porque os autores fizeram uso de reação em cadeia da polimerase em tempo real (*quantitative Polymerase Chain Reaction* - qPCR) (ALVES et al., 2012; RÔÇAS; LIMA; SIQUEIRA, 2013; NEVES et al., 2016; RODRIGUES et al., 2017; ALVES et al., 2018; GAZZANEO et al., 2019).

Esse método molecular, baseado na detecção de DNA, tem sido utilizado para uma quantificação bacteriana mais precisa quando comparada à cultura, devido a sua alta sensibilidade e capacidade de detectar e quantificar, não apenas bactérias

cultiváveis, mas também bactérias viáveis (RÔÇAS; LIMA; SIQUEIRA, 2013; ALVES et al., 2018).

No entanto, esse tipo de método pode detectar células mortas, o que representa uma desvantagem quando se investiga amostras colhidas imediatamente após procedimentos endodônticos (RÔÇAS; SIQUEIRA, 2011).

A contagem bacteriana a partir de cultura foi possível em estudos que utilizaram soluções irrigantes inertes durante o preparo biomecânico (KOÇAK et al., 2013; MITTAL et al., 2015; AYDIN et al., 2017; MACHADO et al., 2017; ALVES et al., 2018; XAVIER et al., 2018; CABREIRA et al., 2019; UREYEN et al., 2019).

Embora não seja o recomendado na prática clínica, os autores fizeram uso de água destilada ou soluções salinas como irrigante em estudos *in vitro*, para permitir a vitalidade e a contagem bacteriana e assim favorecer a comparação direta apenas entre os efeitos mecânicos dos instrumentos, sem a influência do uso de um agente antimicrobiano (KOÇAK et al., 2013; AYDIN et al., 2017; MACHADO 2017; ALVES et al., 2018; XAVIER et al., 2018; CABREIRA et al., 2019).

Embora os efeitos mecânicos da instrumentação sejam altamente eficazes na redução de populações bacterianas (AYDIN et al., 2007; MACHADO et al., 2010; ALVES et al., 2012; MATOS NETO et al. 2012; MACHADO et al., 2013; MARTINHO et al., 2014; NABESHIMA et al., 2014; MARINHO 2015; TEWARI et al., 2016; RODRIGUES et al., 2017), os efeitos químicos de um agente antimicrobiano são fundamentais para alcançar uma melhor desinfecção (BRITO et al., 2009; RODRIGUES et al., 2017; PLOTINO et al., 2017).

Visto que o preparo biomecânico de canais radiculares requer o auxílio de soluções químicas para o desbridamento e eliminação de bactérias do canal radicular (UREYEN et al., 2019), o desenvolvimento de um modelo experimental, utilizando

irrigantes antimicrobianos durante procedimentos endodônticos de rotina, parece mais lógico e reflete mais precisamente as condições clínicas (TANALP; GUNGOR, 2014).

Sendo assim, para tornar este estudo laboratorial similar às condições clínicas do tratamento endodôntico, a solução irrigante NaOCl foi usada durante o preparo biomecânico de todos os espécimes (TASDEMIR et al. 2010), por ser um agente amplamente utilizado em endodontia, devido às suas propriedades físicas, químicas e antibacterianas (ZEHNDER, 2006).

Investigações utilizando uma irrigação antimicrobiana, como o NaOCl, são necessárias para confirmar a superioridade de um sistema de instrumentação sobre o outro quanto à desinfecção intracanal e à extrusão bacteriana (ALVES et al., 2018). Além disso, quando utilizada uma solução inerte, existe a possibilidade de que a quantidade de bactérias extruídas apicalmente seja aumentada, não condizendo necessariamente com o cenário clínico (CABREIRA et al., 2019).

Com o objetivo de minimizar a influência das inevitáveis diferentes características de *design*, conicidade, cinemática (movimentos rotatórios e reciprocante) e número dos instrumentos testados, neste experimento, foi priorizado o controle de variáveis importantes (SIQUEIRA et al., 2013; CABREIRA et al., 2019). Padronizações foram realizadas, tanto quanto possível, para protocolo de irrigação, comprimento de trabalho, configuração do canal radicular e diâmetro apical final.

As três técnicas de instrumentação foram ajustadas para garantir concentração e volume idênticos de solução irrigante (Figura 9), e basicamente o mesmo tempo de operação da instrumentação (ALVES et al., 2012), fatores que podem influenciar tanto na eliminação significativa de populações bacterianas (RETAMOZO et al., 2010; SIQUEIRA et al., 2011; DU et al., 2014; GAZZANEO et al.,

2019) quanto na extrusão de debris e clinicamente afetar a resposta dos tecidos perirradiculares (CAVIEDES-BUCHELI et al. 2016).

Como o NaOCl tem ação antimicrobiana, inclusive contra *E. faecalis* (DAGNA et al., 2012), foi utilizado tiosulfato de sódio para neutralizá-lo durante as coletas microbiológicas e tornar possível a análise da presença de bactérias (MARTINHO et al., 2010; NEVES et al., 2016; RABELLO et al., 2017; RODRIGUES et al., 2017).

A determinação do comprimento de trabalho foi mantida a 1 mm do forame apical, pois a não padronização desta distância poder resultar em influência sobre a desinfecção do canal radicular (SIQUEIRA et al., 2013) e na quantidade de detritos extruídos (MYERS; MONTGOMERY, 1991; SURAKANTI et al., 2014; TANALP; GUNGOR, 2014; CAVIEDES-BUCHELI et al., 2016).

Além do mais, quando se trabalha com dentes extraídos, há uma falta de resistência apical dos tecidos perirradiculares e, portanto, a determinação de um comprimento de trabalho menor do que 1 mm aquém do forame apical pode favorecer a extrusão (TANALP; GUNGOR, 2014).

A performance dos instrumentos de NiTi dependem da geometria do canal radicular (PAQUÉ; GANAHL; PETERS, 2009) e sua capacidade de modelagem pode variar de acordo com amplitude dos canais, o que pode ser uma limitação e comprometer a desinfecção (UREYEN et al., 2019).

Desse modo, incisivos inferiores com anatomia semelhante e canal único, foram selecionados a fim de superar possíveis variações morfológicas nos dentes e também de reduzir os riscos de empurrar material extruído através de canais adjacentes e comunicações (CABREIRA et al., 2019).

O diâmetro apical final foi padronizado em 0,4 mm, uma vez que a amplitude do preparo apical é uma variável que pode influenciar a quantidade de detritos

extruídos (TANALP; GUNGOR, 2014) e a desinfecção do canal radicular (MARINHO et al., 2012). À medida que o preparo apical final é aumentado, o instrumento toca mais as paredes do canal radicular e remove irregularidades anatômicas, camada aderente de biofilme na parede dentinária e dentina infectada (BERKOVICH; IVENSKY; BEN-YAAKOV, 1999; PETERS; ARIAS; PAQUÉ, 2015; RODRIGUES et al., 2017).

Somado a isto, a eficácia químico-mecânica da irrigação também é aumentada em grandes diâmetros apicais finais, pois permitem uma penetração mais profunda da agulha de irrigação e um volume maior de irrigante que atinge o segmento apical (FALK; SEDGLEY, 2005).

Sabe-se que áreas inacessíveis dentro das complexas irregularidades anatômicas do sistema de canais radiculares podem não ser detectadas por amostragem microbiológica. Foi então realizada Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), um método alternativo para observação direta de estruturas de biofilmes intracanal, nos três terços radiculares dos espécimes (cervical, médio e apical), em diferentes aumentos (UREYEN et al., 2019).

A praticidade e simplificação proporcionada pelos novos sistemas de instrumentos endodônticos, a capacidade de remoção mecânica de micro-organismos intracanal deve ser almejada, uma vez que a maioria das doenças perirradiculares é de origem bacteriana (UREYEN et al., 2019).

No presente estudo, a análise microbiológica revelou a presença de bactérias em todas as amostras iniciais (CM1), o que confirmou a contaminação bacteriana por *E. faecalis* com formação de biofilme, que foi ratificada ainda por meio das imagens de MEV (Figura 17), assim como em estudos prévios (TINOCO et al., 2014; CABREIRA et al., 2019; GAZZANEO et al., 2019).

Os resultados revelaram que não houve diferença significativa na capacidade de desinfecção intracanal entre os três sistemas de instrumentação testados. Todos os sistemas foram capazes de promover remoção bacteriana dos canais radiculares. Porém, nenhum deles foi capaz de eliminar *E. faecalis* em todos os espécimes, o que corrobora estudos anteriores que demonstraram quão difícil é eliminar completamente as bactérias após o preparo biomecânico (NABESHIMA et al., 2014; NEVES et al., 2016; UREYEN et al., 2019).

Apesar da eliminação bacteriana significativa observada nos sistemas testados, BioRaCe, Hyflex EDM e Reciproc Blue, a presença de bactérias ainda foi detectada em 22,2%, 33,3% e 66,7% dos canais instrumentados por eles, respectivamente.

Na maioria dos canais instrumentados com BioRace e Hyflex EDM não havia presença de bactérias após o preparo biomecânico. Apesar do grupo instrumentado com Reciproc Blue ter apresentado mais espécimes ainda contaminados, estatisticamente todos os grupos desempenharam papel de desinfecção e se comportaram de maneira semelhante.

A ausência de diferença significativa entre sistemas de instrumentos único e múltiplos pode parecer inesperada, uma vez que o questionamento levantado sobre o uso de instrumentos únicos para canais infectados refere-se ao tempo de preparação que pode ser reduzido.

Acredita-se que tal fato possa afetar negativamente a eficácia de limpeza e desinfecção do preparo biomecânico, devido a possível diminuição do volume de solução irrigante antimicrobiana e do tempo de exposição à esta (ALVES et al., 2012; NEVES et al., 2016; GAZZANEO et al., 2019).

No entanto, de acordo com os achados isso não foi observado, o que vai ao encontro de estudos prévios, que utilizaram métodos de análise molecular ou cultura-dependentes, *in vivo* (RÔÇAS; LIMA; MARTINHO et al., 2014, 2015; NEVES et al., 2016; CAVALLI et al., 2017) e *in vitro* (ALVES et al., 2012; DAGNA et al., 2012; MACHADO et al., 2013; SIQUEIRA et al., 2013; MARINHO et al., 2015; GAZZANEO et al., 2019) e também não observaram diferenças significativas no desempenho na desinfecção entre sistemas únicos reciprocantes e sistemas de instrumentos múltiplos rotatórios. Esses autores constataram que apesar dos sistemas testados terem sido similarmente efetivos na redução do contingente bacteriano, bactérias ainda foram detectadas após o preparo biomecânico em todos os grupos.

Os achados estão em consonância também com os resultados encontrados por Matos Neto et al. (2012) e Machado et al. (2013), que demonstraram que instrumentos com diferentes conicidades não foram associados a diferenças significativas para redução bacteriana (MATOS NETO et al. 2012; MACHADO et al. 2013).

As imagens de MEV confirmaram os resultados microbiológicos (Figura 18, 19 e 20), de que nenhum sistema de instrumentação foi capaz de manter todos os canais livres de bactérias, assim como relatado em estudo anterior (UREYEN et al., 2019).

Em contrapartida, Ureyen et al. (2019) relataram haver diferença na capacidade de desinfecção entre o sistema HyFlex EDM e um sistema de instrumento único reciprocante, diferente do que foi testado neste experimento. Hyflex EDM promoveu redução bacteriana superior, porém ambos demonstraram ser incapazes de promover completa eliminação bacteriana.

Ao mesmo tempo em que a fase do preparo biomecânico de canais radiculares pode ser considerada como o principal passo em termos de controle de infecções endodônticas e eliminação bacteriana (TROPE; DEBELIAN, 2009), pode não ser

suficiente para desinfetar canais radiculares de forma previsível, independentemente do instrumento utilizado (ALVES et al., 2012; SIQUEIRA et al., 2013).

As condições bacteriológicas dos canais radiculares no momento da obturação são fatores determinantes no prognóstico, no qual resultados melhores podem ser obtidos para dentes com culturas negativas (FABRICIUS, et al., 2006) Portanto, a partir dos resultados deste estudo, pode-se inferir que todos os sistemas testados devem gerar prognósticos semelhantes.

Com base nos resultados deste e de outros estudos citados, a eficaz desinfecção do canal radicular aparentemente parece não ser influenciada pelo número de instrumentos utilizados. Mas sim por outros fatores sugeridos pela literatura, como a ação mecânica dos instrumentos sobre a dentina, juntamente com a exposição adequada à solução irrigante (PLOTINO et al., 2015); tipo, volume, concentração das soluções (RETAMOZO et al., 2010; DU et al., 2014); tamanho do preparo apical (FALK; SEDGLEY, 2005; RODRIGUES et al., 2017).

A falta de diferença entre os grupos pode ser explicada pela padronização do volume de NaOCl (SIQUEIRA et al., 2013), que se manteve o mesmo para todos os grupos, independentemente da quantidade de instrumentos utilizados, e por conseguinte, proporcionou uma média de tempo de exposição à solução irrigadora semelhante para todos espécimes.

Por outro lado, Neves et. al. (2016) não padronizaram o tempo de preparo dos canais radiculares, ou seja, houve um tempo menor de exposição para os preparos com instrumento único. No entanto, a falta de diferença significativa na desinfecção intracanal entres os instrumentos utilizados, sugeriu que a desigualdade de tempo não foi capaz de influenciar os resultados.

Alves et al., (2018) afirmaram que o *design* dos instrumentos pode favorecer o descolamento de células bacterianas do biofilme aderido às paredes do canal, o que pode explicar o bom desempenho de todos os sistemas testados. No entanto, esse mecanismo pode causar suspensão de células bacterianas no líquido irrigante, de modo que elas possam se deslocar para além do forame apical durante o preparo biomecânico.

A extrusão de debris e bactérias para os tecidos perirradiculares é um problema inerente a todas as técnicas de limpeza e modelagem dos canais radiculares (TANALP; GUNGOR, 2014).

Embora inquestionáveis os benefícios do surgimento dos instrumentos de NiTi na Endodontia, o preparo biomecânico por meio de sistemas com número reduzido de limas rotatórias e até mesmo de instrumentos únicos reciprocantes, não tem conseguido resolver o problema da extrusão apical.

Mesmo diante da suposição de que a redução no número de instrumentos poderia favorecer a diminuição da extrusão apical e conseqüentemente, a prevalência de periodontite apical pós-tratamento (TANALP; GUNGOR, 2014; CAVIEDES-BUCHELI et al., 2016), estudos têm demonstrado que nem sempre é o que acontece (BÜRKLEIN; SCHÄFER, 2012; KOÇAK et al., 2013; LU et al., 2013; BÜRKLEIN; BENTEN; SCHÄFER, 2014; SURAKANTI et al., 2014; KIRCHHOFF; FARINIUK; MELLO, 2015; CAVIEDES-BUCHELI et al., 2016; FARMAKIS et al., 2016; TOPCUOGLU, et al., 2016; USLU et al., 2018).

Clinicamente, não é possível determinar a frequência e a quantidade de extrusão de debris e bactérias através do forame apical, durante o preparo biomecânico. Então, estudos laboratoriais que simulam a situação clínica do

tratamento endodôntico têm sido realizados com intuito de determinar quais técnicas e instrumentos resultam em mais ou menos extrusão.

Ainda assim, os resultados permanecem controversos, principalmente quanto aos sistemas de instrumento único reciprocante e de instrumentos múltiplos rotatórios (TANALP; GUNGOR, 2014; PLOTINO et al., 2015).

Usualmente, os relatos prévios focam individualmente na avaliação da extrusão de debris ou na extrusão bacteriana. Porém, vale ressaltar que, durante os procedimentos endodônticos, a extrusão ocorre por meio de uma combinação de fatores. O preparo biomecânico está sempre associado à extrusão de debris e à extrusão da solução irrigante, o que também resultará na extrusão de bactérias. Portanto, parece ser mais racional considerar o fenômeno de extrusão de forma holística, e não separadamente (TANALP; GUNGOR, 2014).

Assim como Alves et al. (2018), apesar das diferenças metodológicas, o presente estudo avaliou tanto a extrusão de debris carregados pela solução irrigante, como também a extrusão bacteriana nos mesmos dentes, na tentativa de correlacionar os resultados encontrados.

Os resultados da pesagem e da determinação de volume do material extruído demonstraram que todos os sistemas de instrumentação testados causaram extrusão apical, o que está de acordo com estudos prévios que relataram ser alta a frequência de extrusão *in vitro*, independentemente do instrumento ou técnica utilizada (AL-OMARI et al., 2012, DE-DEUS et al., 2014; TANALP; GUNGOR, 2014; TINOCO et al., 2014; KIRCHHOFF et al., 2015; PLOTINO et al., 2017).

Além disso, todos os grupos apresentaram incidência, peso e volume similares de material extruído, o que corrobora estudos laboratoriais anteriores que também determinaram que não foram encontradas diferenças significativas entre sistemas

rotatórios e instrumentos reciprocantes em relação à quantidade de debris extruídos (KOÇAK et al., 2013; KIRCHHOFF; FARINIUK; MELLO, 2015; CAVIEDES-BUCHELI et al., 2016; USLU et al., 2018).

Está de acordo ainda, especialmente com Uslu et al. (2018), a única comparação direta disponível, por ser o único estudo até o presente momento que comparou os sistemas Hyflex EDM e Reciproc Blue, que também reportaram não haver diferença na quantidade de debris extruídos apicalmente,

Em contrapartida, alguns relatos concluíram que instrumentos acionados por movimento reciprocante causaram maior extrusão de debris do que aqueles acionados por movimento rotatório (BÜRKLEIN; SCHÄFER, 2012; LU et al., 2013; BÜRKLEIN; BENTEN; SCHÄFER 2014; SURAKANTI et al., 2014; FARMAKIS et al., 2016; TOPCUOGLU, et al., 2016) enquanto que outros, relataram o inverso (DE-DEUS et al., 2014; DINCER; ER; CANAKCI, 2015; LU et al., 2015; ÜSTÜN et al., 2015; BORGES et al., 2016; SILVA et al., 2016), o que exemplifica a controvérsia ainda persistente e a necessidade contínua de estudos a respeito de extrusão apical (PLOTINO et al., 2017).

Embora a extrusão de debris venha sendo mais extensivamente estudada, estudos comparando diferentes sistemas de instrumentação quanto à extrusão bacteriana, são escassos (CABREIRA et al., 2019). Até o presente momento, por exemplo, não há nenhum que compare os três sistemas testados neste experimento.

Porém, investigações que analisam extrusão bacteriana, apesar de menos comuns na literatura, representam metodologias relevantes sob o ponto de vista clínico, por apresentarem semelhança com as circunstâncias clínicas, nas quais bactérias são os fatores determinantes para o sucesso a longo prazo do tratamento endodôntico (TANALP; GUNGOR, 2014; CABREIRA et al., 2019).

Os dados microbiológicos mostraram que extrusão bacteriana ocorreu em todos os grupos, com incidência igual entre os instrumentos testados. Em 33,3% dos dentes de todos os grupos, havia presença de bactérias no material extruído. Achados que estão de acordo com estudos anteriores, que também não encontraram diferenças em termos de extrusão bacteriana ao comparar instrumentos reciprocantes e rotatórios (AYDIN et al., 2017; CABREIRA et al., 2019).

Com base nesses resultados, parece que a utilização correta de instrumentos durante o preparo biomecânico, com irrigação suficiente e evitando o forçamento excessivo ao longo do canal radicular, são mais importantes em termos de extrusão bacteriana do que o tipo de movimento, características e propriedades dos instrumentos (AYDIN et al., 2017).

Tendo em vista que o presente estudo teve como intuito simular condições clínicas ao utilizar solução irrigante antimicrobiana, nesta situação, esperava-se que a maioria das bactérias extruídas estivessem mortas. No entanto, na análise do material extruído, foi verificada a presença de bactérias em alguns espécimes.

Segundo Alves et al. (2018), isso pode ter acontecido porque a extrusão bacteriana depende de quanto tempo o NaOCl permaneceu no canal radicular antes que a extrusão ocorresse e atingisse um volume e concentração suficientes para matar as bactérias suspensas. E embora o uso de NaOCl possa resultar em menor quantidade de extrusão bacteriana, a completa eliminação de bactérias não é possível para a maioria dos tratamentos (AYDIN et al., 2017).

Por outro lado, alguns estudos relataram extrusão bacteriana significativamente menor quando promovida por instrumentos reciprocantes em comparação com rotatórios (TINOCO et al., 2014; ALVES et al., 2018); enquanto que outro, observou a situação inversa (SABERI et al., 2017).

As diferenças entre os achados deste estudo e os resultados encontrados na literatura referentes à quantidade de extrusão apical tanto de debris quanto de bactérias, podem ser ocasionados em virtude das diferenças metodológicas tais como: método de coleta de amostras, quantidade de irrigação e duração da instrumentação (UREYEN et al., 2019), diferentes tipos de dentes, de plataformas experimentais e de instrumentos testados (KIRCHHOFF; FARINIUK; MELLO, 2015; USLU et al., 2018; CABREIRA et al., 2019).

Essas diferenças na literatura podem também advir das modificações introduzidas pelos fabricantes nos novos instrumentos testados neste estudo, que os tornam diferentes de sua geração anterior. Como os estudos prévios descreveram resultados gerados por instrumentos antecessores correspondentes ou por instrumentos reciprocantes e rotatórios de outros fabricantes, não há pesquisas sobre extrusão apical que abordem os três instrumentos testados e assim, uma comparação direta não pôde ser feita.

A discrepância relatada por diferentes autores quanto à quantidade de material extruído, pode ser fruto também dos desafios de padronização (TANALP; GUNGOR, 2014; KIRCHHOFF; FARINIUK; MELLO, 2015), das diferenças do potencial de extrusão de diferentes soluções irrigadoras e de métodos de irrigação; e ad permanência de resíduos que pode ocorrer quando realizada evaporação do líquido (TANALP; GUNGOR, 2014).

Posto que a extrusão apical parece não ser influenciada pelo número de instrumentos, a utilização de sistemas com número reduzido de instrumentos ou de instrumento único pode ser vantajosa na redução do número de passos para o preparo biomecânico, já que é possível usar apenas um ou alguns poucos instrumentos em

vez de uma sequência maior, comumente vista em sistemas convencionais (MACHADO et al., 2017).

Apesar do material extruído ser apontado como principal causa de inflamação dos tecidos perirradiculares, deve-se levar em consideração que a ocorrência de dor no paciente pode estar relacionada a fatores adicionais dependentes do hospedeiro, como resposta imunológica (USLU et al., 2018), história de dor pré-operatória (GLENNON et al. 2004) e trauma oclusal (CAVIEDES-BUCHELI et al. 2016); e do operador, como substâncias químicas, lesão mecânica ou bacteriana durante o preparo (SIQUEIRA et al. 2002).

Outro ponto importante considerado pela literatura é a cinemática dos instrumentos. Foi relatado que o movimento de rotação contínua produzia um fluxo constante de debris na direção cervical, enquanto que no movimento recíprocante os debris tendiam a serem deslocados apicalmente (BÜRKLEIN; SCHÄFER, 2012; LU et al., 2013; BENTEN, 2014).

Tinoco et al. (2014) relataram que isso poderia estar relacionado à agressividade do movimento recíprocante, que avança dentro dos canais removendo grandes quantidades de debris. Sob essa perspectiva, a instrumentação com Reciproc Blue favoreceria uma elevada carga bacteriana no interior do canal radicular e maior extrusão apical.

Aydin et al., (2017) alegaram o oposto, de que assim como o que acontece no movimento rotatório, o *design* dos instrumentos Reciproc, direciona bactérias junto com os debris em direção ao orifício do canal e assim, evita maiores quantidades de extrusão bacteriana. Isso poderia explicar porque todos os sistemas de instrumentação testados propiciaram graus semelhantes de extrusão bacteriana.

Er et al. (2005) afirmaram que para que esse direcionamento à porção cervical do canal reduza a quantidade de bactérias extruídas apicalmente, o procedimento deve ser interrompido imediatamente caso haja resistência durante o uso de instrumentos únicos, seguido de irrigação e limpeza da parte de trabalho do instrumento. Neste experimento, todos os instrumentos foram retirados do canal radicular quando notada alguma resistência.

Embora alguns autores tenham declarado que a cinemática do movimento pode afetar a extrusão apical, como visto, essa sua influência permanece controversa e mais estudos são necessários para confirmar tal afirmação (DE-DEUS et al., 2010b; KOÇAK et al., 2013; DE-DEUS et al., 2014).

Portanto, a hipótese nula de que não há diferença entre os diferentes sistemas mecanizados de instrumentação testados, quanto à desinfecção de canais radiculares e à extrusão apical de debris e bactérias, foi confirmada.

Estudos laboratoriais são necessários para o desenvolvimento de instrumentos, materiais e técnicas endodônticas (FAGGION, 2012), mas mesmo quando concebidos com o rigor científico, podem apresentar limitações. Porém, como todo estudo laboratorial apresenta algumas limitações, as extrapolações dos presentes resultados para a condição clínica devem ser feitas com cautela.

Os dados do presente estudo devem ser interpretados com prudência, pois foi utilizada uma cultura pura de uma única espécie bacteriana cultivada sob fornecimento ótimo de nutrientes e sem influência de competidores, porém sabe-se que num cenário clínico a flora bacteriana geralmente é mista (UREYEN et al., 2019).

É difícil extrapolar a magnitude dos resultados quantitativos de extrusão bacteriana para a condição clínica. Uma quantidade pequena de material extruído, por exemplo, pode ter elevado potencial para iniciar ou exacerbar uma resposta

perirradicular, caso seu conteúdo bacteriano seja de alta virulência e apresente características antigênicas; ao mesmo tempo que uma grande quantidade de material, pode não ter alto potencial irritante (TANALP; GUNGOR, 2014; CABREIRA et al., 2019).

Assim, o conhecimento a respeito de fatores qualitativos como características patogênicas, virulência, espécies bacterianas e respostas imunológicas do hospedeiro deve ser explorado em estudos adicionais, pois é tão importante quanto a análise quantitativa de material extruído apicalmente (ELMSALLATI et al., 2009).

Os clínicos não têm controle sobre esses fatores qualitativos, a extrusão apical é inevitável e uma metodologia que a evita completamente ainda não foi desenvolvida (TANALP; GUNGOR, 2014), mas cabe ao profissional tentar controlar ao máximo o fator quantitativo, ao selecionar técnicas e estratégias que busquem minimizar a extrusão apical, baseando-se em estudos laboratoriais (CABREIRA et al., 2019).

Apesar do preparo biomecânico desempenhar papel fundamental na redução do contingente bacteriano intracanal (VASCONCELOS et al., 2017), sabe-se que devido à complexidade anatômica do sistema de canais radiculares, bactérias e resíduos orgânicos localizados na extensão dos túbulos dentinários ou alojados em áreas não preparadas, podem não ser atingidos mesmo após meticulosa instrumentação (RICUCCI et al., 2009; VERA et al., 2012; MARINHO et al., 2015).

Fato que reafirma que, numa situação clínica, deve-se almejar a combinação dos efeitos mecânicos da instrumentação com os efeitos químicos de um agente irrigante antimicrobiano, a qual é imprescindível para redução do contingente bacteriano intracanal (MACHADO et al., 2010; MARINHO et al., 2015; GONÇALVES et al., 2016; RODRIGUES et al., 2017). Deve-se ressaltar também, o uso de medicação antimicrobiana intracanal, que quando associado à instrumentação e

irrigação, representa um aspecto importante na técnica atual para redução bacteriana (MCGURKIN-SMITH; TROPE; CAPLAN, 2005; SIQUEIRA; PAIVA; RÔÇAS, 2007).

Ademais, terapias alternativas ou coadjuvantes ao tratamento endodôntico vêm sendo propostas com o objetivo de complementar a desinfecção do canal radicular e auxiliar no preparo biomecânico, como agitação ultrassônica passiva (VASCONCELOS et al., 2017; NAGENDRABABU et al., 2018) e terapia fotodinâmica com o uso de *lasers* (SIDDIQUI; AWAN; JAVED et al., 2013; CHREPA et al., 2014; RABELLO et al., 2017; ODA et al., 2019).

Este estudo não tentou simular a resistência imposta pelos tecidos periapicais à extrusão apical como em alguns experimentos anteriores (ALVES et al., 2018; CABREIRA et al., 2019); conseqüentemente, a extrusão pode ter ocorrido com mais facilidade e frequência do que o esperado em uma real condição clínica (LU et al., 2013; ALVES et al., 2018).

Estudos adicionais com diferentes grupos de dentes que tenham distintas características anatômicas e configurações de canal radicular, devem ser realizados, uma vez que esses fatores podem alterar os resultados (SIQUEIRA et al., 2013; TANALP; GUNGOR, 2014; TINOCO et al., 2014; CABREIRA et al., 2019); e se possível, em situação o mais próximo possível da realidade clínica, pois a presença de tecidos perirradiculares ao redor do forame apical *in vivo* pode influenciar a extrusão, e as possíveis variações de resistência dos tecidos em cada caso podem afetar os resultados de diferentes maneiras (SALZGEBER; BRILLIANT, 1977).

Desta forma, são necessários mais estudos laboratoriais com rigoroso controle de viés e estudos *in vivo* com novas metodologias que consigam correlacionar a desinfecção intracanal e a extrusão apical de debris e de bactérias (CAVIEDES-BUCHELI et al., 2016) com a atuação de novos sistemas de instrumentação, que vêm

sendo constantemente lançados e recomendados para o preparo biomecânico, muitas vezes, com base em opiniões e conveniência, em vez de eficácia comprovada (SIQUEIRA et al., 2013).

*C*onclusões

Com base na metodologia empregada neste estudo e na subsequente análise dos dados, foi possível concluir que:

1. Todos os sistemas mecanizados de instrumentação testados promoveram desinfecção intracanal, mas nenhum deles foi capaz de promover completa eliminação de bactérias em todos os canais radiculares.
2. Todos os sistemas testados causaram extrusão apical de debris carregados pela solução irrigante e extrusão bacteriana, com incidência e quantidade semelhantes.
3. Os sistemas rotatórios BioRace e Hyflex EDM e recíprocante Reciproc Blue promoveram desinfecção intracanal, extrusão apical de debris e extrusão apical bacteriana similares.

*R*eferências

ABBAS, N. M. A.; SOLOMON, D. G.; BAHARI, F. A review on current research trends in electrical discharge machining. **International Journal of Machine Tools and Manufacture**, v. 47, p. 1214-1228, 2007.

AHANGARI, Z.; MOJTAHED BIDABADI, M.; ASNAASHARI, M.; RAHMATI, A.; TABATABAEI, F. S. Comparison of the Antimicrobial Efficacy of Calcium Hydroxide and Photodynamic Therapy Against Enterococcus faecalis and Candida albicans in Teeth With Periapical Lesions; An In Vivo Study. **Journal of Lasers in Medical Sciences**, v. 8, n. 2, p. 72-78, 2017.

AL-OMARI, M. A. O.; DUMMER, P. M. H. Canal blockage and debris extrusion with eight preparation techniques. **Journal of Endodontics**, v. 21, n. 3, p. 154-158, 1995.

ALSHWAIMI, E. The uptake of nickel-titanium rotary files in Saudi Arabia. **International Journal of Dentistry**, v. 2012, 2012.

ALVES, F. R. F.; RÔÇAS, I. N.; ALMEIDA, B. M.; NEVES, M. A.; ZOFFOLI, J.; SIQUEIRA J. F. JR. Quantitative molecular and culture analyses of bacterial elimination in oval-shaped root canals by a single-file instrumentation technique. **International Endodontic Journal**, v. 45, n. 9, p. 871-877, 2012.

ALVES, F. R. F.; TROVE, P. L.; MARCELIANO-ALVES, M. F.; CABREIRA, L. J.; LIMA, K. C.; SIQUEIRA, J. F. JR; RÔÇAS, I. N.; PROVENZANO, J. C. Bacteria and Hard Tissue Debris Extrusion and Intracanal Bacterial Reduction Promoted by XP-endo Shaper and Reciproc Instruments. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 7, p. 1173-1178, 2018.

ANTUNES, H. S.; RÔÇAS, I. N.; ALVES, F. R.; SIQUEIRA JR, J. R. Total and Specific Bacterial Levels in the Apical Root Canal System of Teeth with Post-treatment Apical Periodontitis. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 7, p. 1037-1042, 2015.

AKSEL, H.; KÜÇÜKKAYA EREN, S.; ÇAKAR, A.; SERPER, A.; ÖZKUYUMCU, C.; AZIM, A. A. Effect of Instrumentation Techniques and Preparation Taper on Apical Extrusion of Bacteria. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 6, p. 1008-1010, 2017.

AYDIN, C.; TUNCA, Y. M.; SENSES, Z.; BAYSALLAR, M.; KAYAOGLU, G.; ØRSTAVIK, D. Bacterial reduction by extensive versus conservative root canal instrumentation in vitro. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 65, n. 3, p. 167-170, 2007.

AYDIN, U.; ZER, Y.; ZORLU GOLGE, M.; KIRKGOZ KARABULUT, E.; CULHA, E.; KARATASLIOGLU, E. Apical extrusion of Enterococcus faecalis in different canal geometries during the use of nickel titanium systems with different motion types. **Journal of Dental Sciences**, v. 12, n. 1, p. 1-6, 2017.

AZIM, A. A.; WANG, H. H.; TARROSH, M.; AZIM, K. A.; PIASECKI, L. Comparison between Single-file Rotary Systems : Part 1 - Efficiency, Effectiveness, and Adverse Effects in Endodontic Retreatment. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 11, p. 1720-1724, 2018.

BARBIERI, N.; BAECHTOLD, M. S.; CORRER, G. M.; GABARDO, M. C.; ZIELAK, J. C.; BARATTO-FILHO, F. Influence of cervical preflaring on apical transportation in curved root canals instrumented by reciprocating file systems. **BMC Oral Health**, v. 15, n. 1, p. 149, 2015.

BENTEN, S. Quantitative evaluation of apically extruded debris with different single-file systems : Reciproc , F360 and OneShape versus Mtwo. p. 405-409, 2014.

BERKOVICH, Y.; IVENSKY, G.; BEN-YAAKOV, S. A resonant inverter as a controlled reactance. **30th Annual IEEE Power Electronics Specialists Conference. Record. (Cat. No.99CH36321)**, v. 1, n. 2, p. 0-5, 1999.

BORGES, A. H.; PEREIRA, T. M.; PORTO, A. N.; DE ARAÚJO ESTRELA, C. R.; MIRANDA PEDRO, F. L.; ARANHA, A. M.; GUEDES, O. A. The Influence of Cervical Preflaring on the Amount of Apically Extruded Debris after Root Canal Preparation Using Different Instrumentation Systems. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 3, p. 465-469, 2016.

BRITO, P. R. R.; SOUZA, L. C.; MACHADO DE OLIVEIRA, J. C.; ALVES, F. R.; DE-DEUS, G.; LOPES, H. P.; SIQUEIRA, J. F. JR. Comparison of the Effectiveness of Three Irrigation Techniques in Reducing Intracanal *Enterococcus faecalis* Populations: An In Vitro Study. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 10, p. 1422-1427, 2009.

BÜRKLEIN, S.; BENTEN, S.; SCHÄFER, E. Quantitative evaluation of apically extruded debris with different single-file systems : Reciproc , F360 and OneShape versus Mtwo. **International Endodontic Journal**, v.47, n. 5, p. 405-409, 2014.

BÜRKLEIN, S.; HINSCHITZA, K.; DAMMASCHKE, T.; SCHÄFER, E. Shaping ability and cleaning effectiveness of two single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth: Reciproc and WaveOne versus Mtwo and ProTaper. **International Endodontic Journal**, v. 45, n. 5, p. 449-461, 2012.

BÜRKLEIN, S.; JÄGER, P. G.; SCHÄFER, E. Apical transportation and canal straightening with different continuously tapered rotary file systems in severely curved root canals: F6 SkyTaper and OneShape versus Mtwo. **International Endodontic Journal**, v. 360, p. 1-8, 2016.

BÜRKLEIN, S.; SCHÄFER, E. Apically extruded debris with reciprocating single-file and full-sequence rotary instrumentation systems. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 6, p. 850–852, 2012.

CABREIRA, L. J.; GOMINHO, L. F.; RÔÇAS, I. N.; DESSAUNE-NETO, N.; SIQUEIRA, J. F. JR; ALVES, F. R. Quantitative analysis of apically extruded bacteria following preparation of curved canals with three systems. **Australian Endodontic Journal**, v. 45, n. 1, p. 79-85, 2019.

CASE, P. D.; BIRD, P. S.; KAHLER, W. A.; GEORGE, R.; WALSH, L. J. Treatment of Root Canal Biofilms of *Enterococcus faecalis* with Ozone Gas and Passive Ultrasound Activation. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 4, p. 523-526, 2012.

CAVALLI, D.; TOIA, C. C.; FLORES OROZCO, E. I.; KHOURY, R. D.; CARDOSO, F. G. D. R.; ALVES, M. C.; CARVALHO, C. A. T.; VALERA, M. C. Effectiveness in the removal of endotoxins and microbiological profile in primary endodontic infections using 3 different instrumentation systems: a randomized clinical study. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 8, p. 1237-1245, 2017.

CAVIEDES-BUCHELI, J.; CASTELLANOS, F.; VASQUEZ, N.; ULATE, E.; MUNOZ, H. R. The influence of two reciprocating single-file and two rotary-file systems on the apical extrusion of debris and its biological relationship with symptomatic apical periodontitis. a systematic review and meta-analysis. **International Endodontic Journal**, v. 49, n. 3, p. 255-270, 2016.

CHREPA, V.; KOTSAKIS, G. A.; PAGONIS, T. C.; HARGREAVES, K. M. The Effect of Photodynamic Therapy in Root Canal Disinfection : A Systematic Review. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 7, p. 891-898, 2014.

COLTENE/WHALEDENT. Hyflex® EDM. Next generation one file niti system, 2016. Disponível:<[https://www.coltene.com/fileadmin/Data/EN/Products/Endodontis/Root canalShaping/HyFlex_EDM/31328AHyFlexEDMBrochureUS.pdf](https://www.coltene.com/fileadmin/Data/EN/Products/Endodontis/Root%20canalShaping/HyFlex_EDM/31328AHyFlexEDMBrochureUS.pdf)>. Acessado em 10 de julho de 2019.

DAGNA, A.; ARCIOLA, C. R.; VISAI, L.; SELAN, L.; COLOMBO. M.; BIANCHI. S.; POGGIO, C. Antibacterial efficacy of conventional and single-use Ni-Ti endodontic instruments: An in vitro microbiological evaluation. **International Journal of Artificial Organs**, v. 35, n. 10, p. 826-831, 2012.

DA SILVA LIMOEIRO, A. G.; DOS SANTOS, A. H.; DE MARTIN, A. S.; KATO, A. S., FONTANA CE, GAVINI, G.; FREIRE, L. G.; DA SILVEIRA BUENO, C. E. Micro-Computed Tomographic Evaluation of 2 Nickel-Titanium Instrument Systems in Shaping Root Canals. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 3, p. 496-469, 2016.

DE-DEUS, G.; BRANDÃO, M. C.; BARINO, B.; DI GIORGI, K.; FIDEL, R. A.; LUNA, A. S. Assessment of apically extruded debris produced by the singlefile ProTaper F2 technique under reciprocating movement. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 110, n. 3, p. 390-394, 2010.

DE-DEUS, G.; MOREIRA, E. J.; LOPES, H. P.; ELIAS, C. N. Extended cyclic fatigue life of F2 Pro-Taper instruments used in reciprocating movement. **International Endodontic Journal**, v. 43, n. 12, p. 1063-1068 2010.

DE-DEUS, G.; NEVES, A.; SILVA, E. J.; MENDONÇA, T. A.; LOURENÇO, C.; CALIXTO, C.; LIMA, E. J. Apically extruded dentin debris by reciprocating single-file and multi-file rotary system. **Clinical Oral Investigations**, v. 19, n. 2, p. 357-361, 2014.

DE-DEUS, G.; SILVA, E. J.; VIEIRA, V. T.; BELLADONNA, F. G.; ELIAS, C. N.; PLOTINO, G.; GRANDE, N. M. Blue Thermomechanical Treatment Optimizes Fatigue Resistance and Flexibility of the Reciproc Files. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 3, p. 462–466, 2017.

DINCER, A. N.; ER, O.; CANAKCI, B. C. Evaluation of apically extruded debris during root canal retreatment with several NiTi systems. **International Endodontic Journal**, v. 48, n. 12, p. 1194-1198, 2015.

DRUKTEINIS, S.; PECIULIENE, V.; DUMMER, P. M. H.; HUPP, J. Shaping ability of BioRace, ProTaper NEXT and Genius nickel-titanium instruments in curved canals of mandibular molars: a MicroCT study. **International Endodontic Journal**, v. 52, n. 1, p. 86-93, 2018.

DU, T.; WANG, Z.; SHEN, Y.; MA, J.; CAO, Y.; HAAPASALO, M. Effect of long-term exposure to endodontic disinfecting solutions on young and old *Enterococcus faecalis* biofilms in dentin canals. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 4, p. 509-514, 2014.

ELMSALLATI, E. A.; WADACHI, R.; SUDA, R. Extrusion of debris after use of rotary nickel- titanium files with different pitch: a pilot study. **Australian Endodontic Journal**, v. 35, n. 2, p. 65–69, 2009.

ER, K.; SUMER, Z.; AKPINAR, K. E. Apical extrusion of intracanal bacteria following use of two engine-driven instrumentation techniques. **International Endodontic Journal**, v. 38, n. 12, p. 871-876, 2005.

FABRICIUS, L.; DAHLÉN, G.; SUNDQVIST, G.; HAPPONEN, R. P.; MÖLLER, A. J. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. **European Journal of Oral Sciences**, v. 114, n. 4, p. 278-285, 2006.

FAGGION, C. Guidelines for reporting pre-clinical in vitro studies on dental materials. **The Journal of Evidence Based Dental Practice**, v. 12, n. 4, p. 182-189, 2002.

FALK, K. W.; SEDGLEY, C. M. The influence of preparation size on the mechanical efficacy of root canal irrigation in vitro. **Journal of Endodontics**, v. 31, n. 10, p. 742-745, 2005.

FARMAKIS, E. T. R.; SOTIROPOULOS, G. G.; ABRÀMOVITZ, I.; SOLOMONOV, M. Apical debris extrusion associated with oval shaped canals: a comparative study of WaveOne vs Self-Adjusting File. **Clinical Oral Investigations**, v. 20, n. 8, p. 2131-2138, 2016.

FERRER-LUQUE, C. M.; BEJARANO, I.; RUIZ-LINARES, M.; BACA, P. Reduction in *Enterococcus faecalis* counts - A comparison between rotary and reciprocating systems. **International Endodontic Journal**, v. 47, n. 4, p. 380–386, 2014.

FKG DENTAIRE. BioRace. Safe and efficient NiTi rotary system. 2012. Disponível: <http://www.fkg.ch/sites/default/files/fkg_br_brochure_an_lowr.pdf>. Acessado em 10 de julho de 2019.

FREIRE, L. G.; GAVINI, G.; BRANCO-BARLETTA, F.; SANCHES-CUNHA, R.; DOS SANTOS, M. Microscopic computerized tomographic evaluation of root canal transportation prepared with twisted or ground nickel-titanium rotary instruments. **Oral**

Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Radiology, v. 112, n. 6, p. e143-148, 2011.

GAZZANELO, I.; VIEIRA, G. C. S.; PÉREZ, A. R.; ALVES, F. R. F.; GONÇALVES, L. S.; MDALA, I.; SIQUEIRA, J. F. JR.; RÔÇAS, I. N. Root Canal Disinfection by Single- and Multiple-instrument Systems: Effects of Sodium Hypochlorite Volume, Concentration, and Retention Time. **Journal of Endodontics**, v. 45, n. 6, p. 736-741, 2019.

GEORGE, S.; KISHEN, A.; SONG, K. P. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. **Journal of Endodontics**, v. 31, n. 12, p. 867-872, 2005.

GLENNON, J. P.; NG, Y. L.; SETCHELL, D. J.; GULABIVALA, K. Prevalence of and factors affecting postpreparation pain in patients undergoing two-visit root canal treatment. **International Endodontic Journal**, v. 37, n. 1, p. 29-37, 2004.

GOMES, B. P. F. A.; ENDO, M. S.; MARTINHO, F. C. Comparison of Endotoxin Levels Found in Primary and Secondary Endodontic Infections. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 8, p. 1082-1086, 2012.

GOMES, B. P. F. A.; PINHEIRO, E. T. Microbial Analysis of Canals of Root-filled Teeth with Periapical Lesions Using Polymerase Chain Reaction. **Journal of Endodontics** v. 34, n. 5, p. 537-540, 2008.

GONÇALVES, L. S.; RODRIGUES, R. C.; ANDRADE JUNIOR, C. V.; SOARES, R. G.; VETTORE, M. V. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine as irrigant solutions for root canal disinfection: A systematic review of clinical trials. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 4, p. 527-532, 2016.

GONZALEZ-RODRIGUEZ, M. P.; FERRER-LUQUE, C. M. A comparison of ProFile, Hero 642, and K3 instrumentation systems in teeth using digital imaging analysis. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 97, n.1, p. 112–115, 2004.

GÜNDOĞAR, M.; ÖZYÜREK, T. Cyclic Fatigue Resistance of OneShape, HyFlex EDM, WaveOne Gold, and Reciproc Blue Nickel-titanium Instruments. **Journal of Endodontics**, v. 4, n .7, p. 1192-1196, 2017.

GUNESER, M. B.; ARSLAN, D.; USUMEZ, A. Tissue Dissolution Ability of Sodium Hypochlorite Activated by Photon-initiated Photoacoustic Streaming Technique. **Journal of Endodontics**, v 41, n. 5, p. 729-732, 2015.

HAAPASALO, M; ØRSTAVIK, D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. **Journal of Dental Research**, v. 66, n. 8, p. 1375–1379, 1987.

HARRINGTON, G. W.; NATKIN, E. Midtreatment flare-ups. **Dental Clinics of North America**, v. 36, n. 2, p. 409-423, 1992.

IACONO, F.; PIRANI, C.; GENERALI, L.; BOLELLI, G.; SASSATELLI, P.;

LUSVARGHI, L.; GANDOLFI, M. G.; GIORGINI, L.; PRATI, C I. Structural analysis of HyFlex EDM instruments. **International Endodontic Journal**, v. 50, n. 3, p. 303-313, 2017.

IACONO, F.; PIRANI, C.; ARIAS, A.; DE LA MACORRA, J. C.; GENERALI, L.; GANDOLFI, M. G.; PRATI, C. Impact of a modified motion on the fatigue life of NiTi reciprocating instruments: a Weibull analysis. **Clinical Oral Investigations**, v. 23, n. 7, p. 3095-3102, 2018.

JATAHY FERREIRA DO AMARAL, R. O.; LEONARDI, D. P.; GABARDO, M. C.; COELHO, B. S.; OLIVEIRA, K. V.; BARATTO FILHO, F. Influence of Cervical and Apical Enlargement Associated with the WaveOne System on the Transportation and Centralization of Endodontic Preparations. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 4, p. 626-631, 2016.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H.; FITZGERALD, R. The effect of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Radiology**, v. 20, p. 340–349, 1965.

KIRCHHOFF, A. L.; FARINIUK, L. F.; MELLO, I. Apical extrusion of debris in flat-oval root canals after using different instrumentation systems. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 2, p. 237-241, 2015.

KOÇAK, S.; KOÇAK, M. M.; SAĞLAM, B. C.; TÜRKER, S. A.; SAĞSEN, B.; ER, Ö. Apical extrusion of debris using self-adjusting file, reciprocating single-file, and 2 rotary instrumentation systems. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 10, p. 1278-1280, 2013.

LIU, H.; WEI, X.; LING, J.; WANG, W.; HUANG, X. Biofilm Formation Capability of *Enterococcus faecalis* Cells in Starvation Phase and Its Susceptibility to Sodium Hypochlorite. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 4, p. 630–635, 2010.

LIU, R.; HOU, B. X.; WESSELINK, P. R.; WU, M. K.; SHEMESH, H. The incidence of root microcracks caused by 3 different single-file systems versus the protaper system. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 8, p. 1054–1056, 2013.

LU, Y.; WANG, R.; ZHANG, L.; LI, H. L.; ZHENG, Q. H.; ZHOU, X. D.; HUANG, D. M. Apically extruded debris and irrigant with two Ni-Ti systems and hand files when removing root fillings: A laboratory study. **International Endodontic Journal**, v. 46, n. 12, p. 1125–1130, 2013.

LU, Y.; HEN, M.; QIAO, F.; WU, L. Comparison of apical and coronal extrusions using reciprocating and rotary instrumentation systems. **BMC Oral Health**, v. 15, p. 1-7, 2015.

LOPES, H. P.; ELIAS, C. N.; VIEIRA, V. T.; MOREIRA, E. J.; MARQUES, R. V.; DE OLIVEIRA, J. C.; DEBELIAN, G.; SIQUEIRA, J. F. JR. Effects of electropolishing surface treatment on the cyclic fatigue resistance of BioRace nickel-titanium rotary instruments. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 10, p. 1653-1657, 2010.

MCGURKIN-SMITH R, TROPE M, CAPLAN D, S. A. Reduction of Intracanal Bacteria

Using GT Rotary. **Journal of endodontics**, v. 31, n. 5, p. 359-363, 2005.

MACHADO, M. E. L.; SAPIA, L. A. B.; CAI, S.; MARTINS, G. H. R.; NABESHIMA, C. K. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 7, p. 1238-1240, 2010.

MACHADO, M. E. L.; NABESHIMA, C. K.; LEONARDO, M. F.; REIS, F. A.; BRITTO, M. L.; CAI, S. Influence of reciprocating single-file and rotary instrumentation on bacterial reduction on infected root canals. **International Endodontic Journal**, v. 46, n. 11, p. 1083-1087, 2013.

MACHADO, M. E. DE L.; NABESHIMA, C. K.; CABALLERO-FLORES, H.; ELMADJIAN-FILHO, M.; DUARTE, M. A. H.; ODINOLA-ZAPATA, R.; CAI, S. Instrument design may influence bacterial reduction during root canal preparation. **Brazilian Dental Journal**, v. 28, n. 5, p. 587-591, 2017.

MAMEDE-NETO, I.; GUEDES, O. A.; DE OLIVEIRA, D.; PEDRO, F. L.; ESTRELA, C. Root Canal Transportation and Centering Ability of Nickel-Titanium Rotary Instruments in Mandibular Premolars Assessed Using Cone-Beam Computed Tomography. **The Open Dentistry Journal**, v. 11, p. 71-78, 2017.

MARINHO, A. C. S.; MARTINHO, F. C.; GONÇALVES, L. M.; RABANG, H. R. C.; GOMES, B. P. F. A. Does the Reciproc file remove root canal bacteria and endotoxins as effectively as multifile rotary systems? **International Endodontic Journal**, v. 48, n. 6, p. 542-548, 2015.

MARTINHO, F. C.; CHIESA, W. M.; LEITE, F. R.; CIRELLI, J. A.; GOMES, B. P. F. A. Antigenic activity of bacterial endodontic contents from primary root canal infection with periapical lesions against macrophage in the release of interleukin-1beta and tumor necrosis factor alpha. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 9, p. 1467-1474, 2010.

MARTINHO, F. C.; FREITAS, L. F.; NASCIMENTO, G. G.; FERNANDES, A. M.; LEITE, F. R.; GOMES, A. P.; CAMÕES, I. C. Endodontic retreatment: clinical comparison of reciprocating systems versus rotary system in disinfecting root canals. **Clinical Oral Investigation**, v. 19, n. 6, p. 1411-1417, 2015

MARTINHO, F. C.; GOMES, A. P.; FERNANDES, A. M.; FERREIRA, N. S.; ENDO, M. S.; FREITAS, L. F.; CAMÕES, I. C. Clinical comparison of the effectiveness of single-file reciprocating systems and rotary systems for removal of endotoxins and cultivable bacteria from primarily infected root canals. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 5, p. 625-629, 2014.

MARTINHO, F. C.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C.; GOMES, B. P. Influence of the apical enlargement size on the endotoxin level reduction of dental root canals. **Journal of Applied Oral Science**, v. 20, n. 6, p. 661-666, 2012.

MATOS NETO, M.; SANTOS, S. S. F.; LEÃO, M. V. P.; HABITANTE, S. M.; RODRIGUES, J. R. D. D.; JORGE, A. O. C. Effectiveness of three instrumentation systems to remove *Enterococcus faecalis* from root canals. **International Endodontic Journal**, v. 45, n. 5, p. 435-438, 2012.

MITTAL, R.; SINGLA, M. G.; GARG, A.; DHAWAN, A. A Comparison of Apical Bacterial Extrusion in Manual, ProTaper Rotary, and One Shape Rotary Instrumentation Techniques. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 12, p. 2040-2044, 2015.

MUHAMMAD, O. H.; CHEVALIER, M.; ROCCA, J. P.; BRULAT-BOUCHARD, N.; MEDIONI, E. Photodynamic therapy versus ultrasonic irrigation: Interaction with endodontic microbial biofilm, an ex vivo study. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 11, n. 2, p. 171-181, 2014.

MYERS, G. L.; MONTGOMERY, S. A comparison of weights of debris extruded apically by conventional filing and canal master techniques. **Journal of Endodontics**, v. 17, p. 275-259, 1991.

NABESHIMA, C. K.; CABALLERO-FLORES, H.; CAI, S.; ARANGUREN, J.; BORGES BRITTO, M. L.; MACHADO, M. E. Bacterial removal promoted by 2 single-file systems: Wave One and One Shape. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 12, p. 1995-1998, 2014.

NAGENDRABABU, V.; JAYARAMAN, J.; SURESH, A.; KALYANASUNDARAM, S.; NEELAKANTAN, P. Effectiveness of ultrasonically activated irrigation on root canal disinfection: a systematic review of in vitro studies. **Clinical Oral Investigation**, v. 22, n.2, p. 655-670, 2018.

NEVARES, G.; XAVIER, F.; GOMINHO, L.; CAVALCANTI, F.; CASSIMIRO, M.; ROMEIRO, K.; ALVARES, P.; QUEIROZ, G.; SOBRAL, AP.; GERBI, M.; SILVEIRA, M.; ALBUQUERQUE, D. Apical Extrusion of Debris Produced during Continuous Rotating and Reciprocating Motion. **The Scientific World Journal**, p. 1-5, 2015.

NEVES, M. A. S.; PROVENZANO, J. C.; RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA, J. F. JR. Clinical Antibacterial Effectiveness of Root Canal Preparation with Reciprocating Single-instrument or Continuously Rotating Multi-instrument Systems. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 1, p. 25-29, 2016.

ODA, D. F.; DUARTE, M. A. H.; ANDRADE, F. B.; MORIYAMA, L. T.; BAGNATO, V. S.; DE MORAES, I. G. Antimicrobial action of photodynamic therapy in root canals using LED curing light, curcumin and carbopol gel. **International Endodontic Journal**, v. 52, n. 7, p. 1010-1019, 2019.

PAQUÉ, F.; GANAHL, D.; PETERS, O. A. Effects of Root Canal Preparation on Apical Geometry Assessed by Micro-Computed Tomography. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 7, p. 1056-1059, 2009.

PEDULLÀ, E.; GENOVESI, F.; RAPISARDA, S.; LA ROSA, G. R.; GRANDE, N. M.; PLOTINO, G.; ADORNO, C. G. Effects of 6 Single-File Systems on Dentinal Crack Formation. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 3, p. 456-461, 2017.

PEDULLÀ, E.; LO SAVIO, F.; BONINELLI, S.; PLOTINO, G.; GRANDE, N. M.; LA ROSA, G.; RAPISARDA, E. Torsional and Cyclic Fatigue Resistance of a New Nickel-Titanium Instrument Manufactured by Electrical Discharge Machining. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 1, p. 156-159, 2015.

- PEDULLÀ, E. et al. Influence of Different Angles of File Access on Cyclic Fatigue Resistance of Reciproc and Reciproc Blue Instruments. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 12, p. 1849-1855, 2018
- PLOTINO, G.; TESTARELLI, L.; AL-SUDANI, D.; PONGIONE, G.; GRANDE, N. M.; GAMBARINI, G. Fatigue resistance of rotary instruments manufactured using different nickel - titanium alloys : a comparative study. **Odontology**, v. 102, n. 1, p. 31–35, 2014.
- PLOTINO, G.; AHMED, H. M.; GRANDE, N. M.; COHEN, S.; BUKIET, F. Current Assessment of Reciprocation in Endodontic Preparation: A Comprehensive Review - Part II: Properties and Effectiveness. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 12, p. 1939-50, 2015.
- PECIULIENE, V.; REYNAUD, A. H.; BALCIUNIENE, I.; HAAPASALO, M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. **International Endodontic Journal**, v. 34, n. 6, p. 429-434, 2001.
- PETERS, O. A.; ARIAS, A.; PAQUÉ, F. A Micro-computed Tomographic Assessment of Root Canal Preparation with a Novel Instrument, TRUShape, in Mesial Roots of Mandibular Molars. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 9, p. 1545-1550, 2015.
- PINHEIRO, E. T.; GOMES, B. P.; FERRAZ, C. C.; SOUSA, E. L.; TEIXEIRA, F. B.; SOUZA-FILHO, F. J. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. **International Endodontic Journal**, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2003.
- PORTENIER, I.; WALTIMO, T. M. T.; HAAPASALO, M. Enterococcus faecalis – the root canal survivor and “ star ” in post- treatment disease. **Endodontic Topics** v. 6, p. 135–159, 2003.
- RABELLO, D. G. D.; CORAZZA, B. J. M.; FERREIRA, L. L.; SANTAMARIA, M. P.; GOMES, A. P. M.; MARTINHO, F. C. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy Does supplemental photodynamic therapy optimize the disinfection of bacteria and endotoxins in one-visit and two-visit root canal therapy? A randomized clinical trial. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 19, p. 205-211, 2017.
- REDDY, S. A.; HICKS, M. L. Apical extrusion of debris using two hand and two rotary instrumentation techniques. **Journal of Endodontics**, v. 24, n. 3, p. 180-183, 1998.
- RETAMOZO, B.; SHABAHANG, S.; JOHNSON, N.; APRECIO, R. M.; TORABINEJAD, M. Minimum Contact Time and Concentration of Sodium Hypochlorite Required to Eliminate Enterococcus faecalis. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 3, p. 520-523, 2010.
- RICUCCI, D.; SIQUEIRA, J. F. JR, BATE, A. L.; PITT FORD T. R. Histologic investigation of root canal-treated teeth with apical periodontitis: a retrospective study from twenty-four patients. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 4, p. 493-502, 2009.
- RICUCCI, D.; SIQUEIRA, J. F. JR; LOPES, W. S.; VIEIRA, A. R.; RÔÇAS, I. N. Extraradicular infection as the cause of persistent symptoms: A case series. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 2, p. 265-273, 2015.

RÔÇAS, I. N.; LIMA, K. C.; SIQUEIRA, J. F. Reduction in bacterial counts in infected root canals after rotary or hand nickel-titanium instrumentation - a clinical study. **International Endodontic Journal**, v. 46, n. 7, p. 681-687, 2013

RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA, J. F. In vivo antimicrobial effects of endodontic treatment procedures as assessed by molecular microbiologic techniques. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 3, p. 304-310, 2011.

RODRIGUES, R. C. V.; ZANDI, H.; KRISTOFFERSEN, A. K.; ENERSEN, M.; MDALA, I.; ØRSTAVIK, D.; RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA, J. F. JR. Influence of the Apical Preparation Size and the Irrigant Type on Bacterial Reduction in Root Canal-treated Teeth with Apical Periodontitis. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 7, p. 1058-1063, 2017.

SABERI, E.; ZAHEDANI, S. S.; EBRAHIMPOUR, S. Apical Extrusion of Intracanal Bacteria with Single File and Multifile Rotary Instrumentation Systems. **Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry**, v. 7, n. 5, p. 292-296, 2017.

SAFFARI, F.; SOBHANIPOOR, M. H.; SHAHRAVAN, A.; AHMADRAJABI, R. Virulence Genes, Antibiotic Resistance and Capsule Locus Polymorphisms in *Enterococcus faecalis* isolated from Canals of Root-Filled Teeth with Periapical Lesions. **Infection & chemotherapy**, v. 50, n. 4, p. 340-345, 2018.

SALZGEBER, R. M.; BRILLIANT, J. D. An in vivo evaluation of the penetration of an irrigating solution in root canals. **Journal of Endodontics**, v. 3, n. 10, p. 394-398, 1977.

SELTZER, S.; NAIDORF, I. J. Flare-ups in Endodontics : I. Etiological Factors. **Journal of endodontics**, v. 11, n. 11, p. 472-478, 1985.

SHEN, Y.; TRA, C.; HIEAWY, A.; WANG, Z.; HAAPASALO, M. Effect of Torsional and Fatigue Preloading on HyFlex EDM Files. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 4, p. 643-647, 2018.

SIDDIQUI, S. H.; AWAN, K. H.; JAVED, F. Bactericidal efficacy of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis* in infected root canals: A systematic literature review. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 10, n. 4, p. 632-643, 2013.

SILVA, E. J.; CARAPIA, M. F.; LOPES, R. M.; BELLADONNA, F. G.; SENNA, P. M.; SOUZA, E. M.; DE-DEUS, G. Comparison of apically extruded debris after large apical preparations by full-sequence rotary and single-file reciprocating systems. **International Endodontic Journal**, v. 49, n. 7, p. 700-705, 2016.

SIQUEIRA, J. F. Microbial causes of endodontic flare-ups. **International Endodontic Journal**, v. 36, n. 7, p. 453-463, 2003.

SIQUEIRA, J. F. JR; ALVES, F. R.; RÔÇAS I. N. Pyrosequencing analysis of the apical root canal microbiota. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 11, p. 1499-1503, 2011.

SIQUEIRA, J. F.; ALVES, F. R.; VERSIANI, M. A.; RÔÇAS, I. N.; ALMEIDA, B. M.; NEVES, M. A.; SOUSA-NETO, M. D. Correlative bacteriologic and micro-computed tomographic analysis of mandibular molar mesial canals prepared by self-adjusting file, reciproc, and twisted file systems. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 8, p. 1044-1050, 2013.

SIQUEIRA, J. F. JR.; PAIVA, S. S. M.; RÔÇAS, I. N. Reduction in the cultivable bacterial population in infected root canals by a chlorhexidine-based antimicrobial protocol. **Journal of Endodontics**, v. 33, n.5, p. 541-547, 2007.

SIQUEIRA, J. F. JR; RÔÇAS, I. N.; FAVIERI, A.; MACHADO, A. G.; GAHYVA, S. M.; OLIVEIRA, J. C.; ABAD, E. C. Incidence of Postoperative Pain After Intracanal Procedures Based on an Antimicrobial Strategy. **Journal of endodontics**, v. 28, n. 6, p. 457-60, 2002.

SUBRAMANIAN, K.; MICKEL, A. K. Molecular Analysis of Persistent Periradicular Lesions and Root Ends Reveals a Diverse Microbial Profile. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 7, p. 950-957, 2009.

SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D.; PERSSON, S.; SJÖGREN, U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Radiology**, v. 85, n. 1, p. 86-93, 1998.

SURAKANTI, J. R.; VENKATA, R. C.; VEMISETTY, H. K.; DANDOLU, R. K.; JAYA, N. K.; THOTA, S. Comparative evaluation of apically extruded debris during root canal preparation using ProTaper, Hyflex and Waveone rotary systems. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 17, n. 2, p. 129-132, 2014.

TANALP, J.; GUNGOR, T. Apical extrusion of debris : a literature review of an inherent occurrence during root canal treatment. **International Endodontic Journal**, v. 47, n. 3, p. 211-221, 2014.

TASDEMIR, T.; ER, K.; ÇELIK, D.; AYDEMIR, H. An in vitro comparison of apically extruded debris using three rotary nickel- titanium instruments. **Journal of Dental Science**, v. 5, p. 121-125, 2010.

TEIXEIRA, J. M. S.; CUNHA, F. M.; JESUS, R. O.; SILVA, E. J.; FIDEL, S. R.; SASSONE, L. M. Influence of working length and apical preparation size on apical bacterial extrusion during reciprocating instrumentation. **International Endodontic Journal**, v. 48, n. 7, p. 648-653, 2015.

TEWARI, R. K, ALI, S.; MISHRA, S. K.; KUMAR, A.; ANDRABI, S. M.; ZOYA, A.; ALAM, S. Mechanical reduction of the intracanal *Enterococcus faecalis* population by Hyflex CM, K3XF, ProTaper Next, and two manual instrument systems: an in vitro comparative study. **Journal of investigative and clinical dentistry**, v. 7, n. 2, p. 168-173, 2016.

TINOCO, J. M.; DE-DEUS, G.; TINOCO, E. M.; SAAVEDRA, F.; FIDEL, R. A.; SASSONE, L. M. Apical extrusion of bacteria when using reciprocating single-file and rotary multifile instrumentation systems. **International Endodontic Journal**, v. 47, n.

6, p. 560-566, 2014.

TOPCUOGLU HS, ZAN R, AKPEK F.; TOPÇUOĞLU, G.; ULUSAN, Ö.; AKTI, A.; DÜZGÜN S.; AĞIRNASLIGIL, M. A.; Apically extruded debris during root canal preparation using Vortex Blue, K3XF, ProTaper Next and Reciproc instruments **International Endodontic Journal**, v. 49, n. 12, p. 1183-1187, 2016.

UREYEN, B.; ERIK, C. E.; SESLI ÇETIN, E.; KÖLE, M.; MADEN, M. Mechanical reduction in intracanal *Enterococcus faecalis* when using three different single-file systems : an ex vivo comparative study. **International Endodontic Journal**, v. 52, n. 1, p. 77-85, 2019.

USLU, G.; ÖZYÜREK, T.; YILMAZ, K.; GÜNDOĞAR, M.; PLOTINO, G. Apically Extruded Debris during Root Canal Instrumentation with Reciproc Blue, HyFlex EDM, and XP-endo Shaper Nickel-titanium Files. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 5, p. 856–859, 2018.

ÜSTÜN, Y.; ÇANAKÇI, B. C.; DINÇER, A. N.; ER, O.; DÜZGÜN, S. Evaluation of apically extruded debris associated with several Ni-Ti systems. **International Endodontic Journal**, v. 48, n. 7, p. 701-704, 2015.

VANSAN, L. P.; PÉCORA, J. D.; DA COSTA, W. F.; SILVA, R. G.; SAVIOLI, R. N. Comparative in vitro study of apically extruded material after four different root canal Instrumentation techniques. **Brazilian Dental Journal**, v. 8, n. 2, p. 79-83, 1997.

VASCONCELOS, L. R. S. M.; MIDENA, R. Z.; MINOTTI, P. G.; PEREIRA, T. C.; DUARTE, M. A. H.; ANDRADE, F. B. Effect of ultrasound streaming on the disinfection of flattened root canals prepared by rotary and reciprocating systems. **Journal of Applied Oral Science**, v. 25, n. 5, p. 477-482, 2017.

VENINO, P. M.; CITTERIO, C. L.; PELLEGATTA, A.; CICCARELLI, M.; MADDALONE, M. A Micro-computed Tomography Evaluation of the Shaping Ability of Two Nickel-titanium Instruments, HyFlex EDM and ProTaper Next. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 4, p. 628-632, 2017.

VERA, J.; SIQUEIRA, J. F. JR.; RICUCCI, D.; LOGHIN, S.; FERNÁNDEZ, N.; FLORES, B.; CRUZ, A. G. One versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: A histobacteriologic study. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 8, p. 1040-1052, 2012.

VIVACQUA-GOMES, N.; GURGEL-FILHO, E. D.; GOMES, B. P.; FERRAZ, C. C.; ZAIA, A. A.; SOUZA-FILHO, F. J. Recovery of *Enterococcus faecalis* after single- or multiple-visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. **International Endodontic Journal**, v. 38, n. 10, p. 697-704, 2005.

VDW. Reciproc® Blue. A great file. Even better. Munich, Germany, 2016. Disponível:<<https://www.vdwdental.com/fileadmin/Dokumente/Sortiment/Aufbereitung/ReziprokeAufbereitung/RECIPROCBLUE/VDWDentalRECIPROCBLUEproductbrochure-EN.pdf>>. Acessado em 10 de julho de 2017.

WALIA, H. M.; BRANTLEY, W. A.; GERSTEIN, H. An Initial Investigation of the Bending and Torsional Properties of Nitinol Root Canal Files. **Journal of endodontics**, v. 14, n. 7, p. 346-351, 1988.

XAVIER, A. C. C.; MARTINHO, F. C.; CHUNG, A.; JORGE, A. O.; VALERA, M. C.; CARVALHO, C. A. One-Visit Versus Two-Visit Root Canal Treatment: Effectiveness in the Removal of Endotoxins and Cultivable Bacteria. **Journal of endodontics**, v. 39, n. 8, p. 959-964, 2013.

XAVIER, F.; NEVARES, G.; GOMINHO, L.; RODRIGUES, R.; CASSIMIRO, M.; ROMEIRO, K.; ALBUQUERQUE, D. Bacterial reduction after gutta-percha removal with single and multiple instrument systems. **Iranian Endodontic Journal**, v. 13, n. 2, p. 176-180, 2018.

YOU, S.Y.; KIM, H. C.; BAE, K. S.; BAEK, S. H.; KUM, K. Y.; LEE, W. Shaping ability of reciprocating motion in curved root canals: a comparative study with micro-computed tomography. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 9, p. 1296-1300, 2011.

ZAN, R.; ALACAM, T.; HUBBEZOGLU, I.; TUNC, T.; SUMER, Z.; ALICI, O. Antibacterial Efficacy of Super-Oxidized Water on Enterococcus faecalis Biofilms in Root Canal. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 9, n. 9, 2016.

ZEHNDER, M. Root Canal Irrigants. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 5, p. 389-398, 2006.