



CIMARA BARROSO BRAGA BRUM

**“COMPARAÇÃO ENTRE TÉCNICAS DE INSTRUMENTAÇÃO  
E PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO NA REDUÇÃO DE  
*ENTEROCOCCUS FAECALIS* NO CANAL RADICULAR:  
ESTUDO *EX VIVO*”**

**PIRACICABA  
2013**





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

**CIMARA BARROSO BRAGA BRUM**

**“COMPARAÇÃO ENTRE TÉCNICAS DE INSTRUMENTAÇÃO  
E PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO NA REDUÇÃO DE  
*ENTEROCOCCUS FAECALIS* NO CANAL RADICULAR:  
ESTUDO *EX VIVO*”**

Orientadora: Profa. Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Mestra em Clínica Odontológica - Área de Endodontia.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL  
DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA  
CIMARA BARROSO BRAGA BRUM E ORIENTADA PELA  
PROFA. DRA. BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES

Assinatura do Orientador

---

**PIRACICABA  
2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR  
JOSIDELMA F COSTA DE SOUZA – CRB8/5894 - BIBLIOTECA DA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

B834c Brum, Cimara Barroso Braga, 1980-  
Comparação entre Técnicas de Instrumentação e Protocolos  
de Irrigação na Redução de Enterococcus faecalis no Canal  
Radicular: Estudo Ex Vivo / Cimara Barroso Braga Brum. --  
Piracicaba, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas,  
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Clorexidina. 2. Hipoclorito de sódio. 3. Enterococcus  
faecalis. I. Gomes, Brenda Paula Figueiredo de Almeida, 1961-  
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

**Título em Inglês:** Comparison of Instrumentation Techniques and Irrigation  
Protocols in Reduction of Enterococcus faecalis in Root Canal: Ex Vivo Study

**Palavras-chave em Inglês:**

Chlorhexidine  
Sodium hypochlorite  
Enterococcus faecalis

**Área de concentração:** Endodontia

**Titulação:** Mestra em Clínica Odontológica

**Banca examinadora:**

Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes [Orientador]  
José Flávio Affonso de Almeida  
Helena Rosa Campos Rabang

**Data da defesa:** 20-02-2013

**Programa de Pós-Graduação:** Clínica Odontológica



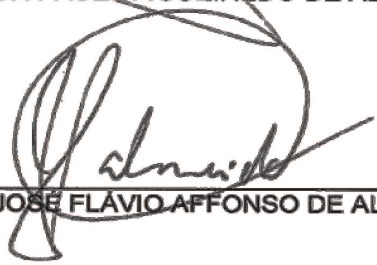
**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**Faculdade de Odontologia de Piracicaba**



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 20 de Fevereiro de 2013, considerou a candidata CIMARA BARROSO BRAGA BRUM aprovada.



\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES



\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. JOSÉ FLÁVIO AFFONSO DE ALMEIDA



\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. HELENA ROSA CAMPOS RABANG



## **Dedico este trabalho...**

À minha filha, Júlia Barroso Braga Brum, que durante toda esta jornada é a pessoa que talvez menos entenda o significado deste trabalho, mas certamente é quem mais torce pela sua finalização, para que possa ter sua mãe por inteiro novamente.

Ao meu eterno companheiro, Joelson Rodrigues Brum, por sempre me apoiar, incentivar, e mesmo nos momentos mais difíceis, não me deixar esmorecer. Mesmo que a vida nos pregue peças e nos leve para caminhos distintos, tenho certeza que todo carinho, respeito e admiração mútuos nos permitirão sempre a manutenção do alicerce que nos apoiará em todos os desafios vindouros.

À minha mãe, Ione Barroso Braga da Silva, que em sua simplicidade, nunca questionou e nem sempre entendeu bem o que significa um Mestrado, mas mostrou-se uma guerreira incansável em me apoiar, principalmente em minhas ausências para a realização das etapas desta pesquisa.



## **Agradeço...**

A Deus, acima de tudo, pois sem ele nada seria possível...

À minha orientadora, Profa. Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, pessoa a quem a minha antiga admiração, desde quando nem mesmo era sua orientanda, se transformaram em um profundo respeito e orgulho por ter me aceitado e acreditado em mim, quando nem eu mesma acreditava. Encantam-me sua sabedoria, competência e ao mesmo tempo sua disponibilidade para nos atender e nos auxiliar no que for necessário. Pessoa que não mede esforços para que consigamos concluir nossas pesquisas e nos aprimorarmos cada vez mais no meio acadêmico. É uma honra poder chama-la de minha Orientadora...

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, nas pessoas do Diretor Prof. Dr. Jacks Jorge Junior e do Diretor Associado Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelos recursos oferecidos durante a execução desse trabalho.

À Profa Dra Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia, Coordenadora geral dos cursos de Pós-Graduação.

Ao Prof. Dr. Márcio de Moraes, Coordenador do curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica.

À equipe técnica da Coordenadoria de Pós-Graduação, Érica A. P. Sinhoreti, Priscila Zuzi Boldrin, Raquel Q. M. Cesar, Roberta C. M. dos Santos e Ana Paula Carone.

Aos professores da área de Endodontia da FOP-UNICAMP, Prof. Dr. Francisco José de Souza Filho, Profa Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, Prof. Dr. Caio Cezar Randi Ferraz, Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia, Prof. Dr, José Flávio Afonso de Almeida. Aos Pesquisadores Colaboradores da Disciplina: Adriana de Jesus Soares e Rogério de Castilho Jacinto, por todo o aprendizado e exemplo de profissionais a serem seguidos.

Aos Professores Doutores Caio Cezar Randi Ferraz, Neylla Teixeira Sena e Frederico Canato Martinho, por terem feito parte da minha banca de qualificação. Sua ajuda foi preciosa para o aprimoramento deste trabalho.

A todos os amigos da área de Endodontia da FOP-UNICAMP: Ana Pimentel, Aniele Lacerda, Ariane Marinho, Cláudia Suzuki, Erika Clavijo, Thais Mageste, Thiago Farias, Tiago Rosa, Carlos Augusto Pantoja, Daniel Herrera, Emmanuel Silva, Fernanda Signoretti, Giselle Abi Rached, Letícia Maria Nóbrega, Karine Schell, Maíra do Prado, Maria Rachel Monteiro, Daniela Miyagaki, Carolina Santos, Juliana Nagata, companheiros do Mestrado, amigos do Doutorado e pessoas que já passaram por estes desafios. Vocês são muito especiais e importantes para mim. Agradeço por toda a ajuda e carinho que vocês me deram nesse período.

Ao amigo Francisco Montagner, não tenho nem palavras para agradecer sua valiosa ajuda especialmente nas etapas iniciais desse trabalho. Você é iluminado e um exemplo de profissional e ser humano. Desejar-lhe toda a felicidade do mundo é pouco para o que você merece.

À querida amiga Ana Godoy por todo o apoio dado no laboratório e fora dele, tanto na pesquisa quanto na amizade.

Agradeço, especialmente, à Geovania Almeida, minha companheira das noites insones no laboratório e parte essencial do desenvolvimento dessa

pesquisa. Amiga, as palavras não são suficientes para agradecer tudo o que você fez por mim.

À Thais Mageste Duque e Marcos Endo, por todo carinho, amizade e apoio, sobretudo nas etapas iniciais dessa pesquisa e posteriormente durante toda a nossa convivência. Amo vocês.

Aos queridos amigos manauaras Neylla Sena, Celso Onety, Kamila Guedes, que tanto me incentivam e torcem por mim. Tô chegando lá...

Agradeço imensamente a Hugo Felipe do Vale, por ter me auxiliado com a estatística desse trabalho, muitas vezes abrindo mão dos seus momentos de lazer ou trabalho para sanar minhas dúvidas.

Às minhas queridas companheiras da República Primavera, Sílvia, Kamila, Flávia, Bruna e Denise, obrigada por me aguentarem especialmente nos momentos mais estressantes.

Ao amigo Prof. Dr. Wanderson Chiesa, meu primeiro incentivador a encarar os desafios da docência. Apesar da distância saiba que lhe tenho um enorme carinho e admiração e lhe desejo todo o sucesso do mundo em sua caminhada.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.



## RESUMO

Este estudo teve por objetivo avaliar *ex vivo* a capacidade de desinfecção de diferentes técnicas de instrumentação utilizando os sistemas ProTaper, ProTaper + Gates, EndoEze, Mtwo e limas manuais em canais contaminados com *Enterococcus faecalis*, utilizando hipoclorito de sódio 1%, clorexidina gel 2% e soro fisiológico associados a diferentes protocolos de irrigação. Para este fim, 150 molares superiores humanos extraídos, previamente acessados, tiveram as entradas dos canais palatino e méso-vestibular seladas com resina composta, para que somente o canal disto-vestibular fosse utilizado. O mesmo foi instrumentado até uma lima K #20 para estabelecer o diâmetro da lima anatômica inicial. Após estes procedimentos, os dentes foram autoclavados e posteriormente contaminados por 21 dias com *Enterococcus faecalis*. Em seguida os dentes foram divididos aleatoriamente em 15 grupos de 10 espécimes cada, de acordo com a técnica de instrumentação e o protocolo de irrigação utilizado. Amostras microbianas do canal radicular foram coletadas e cultivadas antes (coleta inicial - C1) e após a instrumentação (coleta da luz do canal – C2 e coleta de raspas de dentina – C3), para a determinação das unidades formadoras de colônia (UFC). A análise estatística foi realizada através dos testes de Kruskal Wallis/ Dunn para as comparações intergrupo, e Friedman ou Wilcoxon para as comparações intragrupo considerando o nível de significância de 0,05. Verificou-se que na luz do canal radicular não houve diferença entre as técnicas de instrumentação empregadas, independente da substância química auxiliar utilizada. Quanto às substâncias testadas, tanto a clorexidina gel 2% quanto o hipoclorito 1% foram igualmente efetivos na redução de *Enterococcus faecalis*, enquanto que o soro fisiológico obteve resultados inferiores. Concluiu-se que as técnicas de instrumentação testadas, independente do sistema utilizado, foram eficazes em reduzir os níveis de *Enterococcus faecalis* na luz do canal radicular associadas ao hipoclorito de sódio 1% ou a clorexidina gel 2%.

PALAVRAS-CHAVES: instrumentação, irrigantes do canal radicular, *Enterococcus faecalis*, clorexidina, hipoclorito de sódio

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate *ex vivo* the disinfection ability of different instrumentation techniques using the ProTaper System, ProTaper + Gates, EndoEze System, Mtwo System and stainless still K- files, in root canals infected with *Enterococcus faecalis* using 1% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine gel and sterile saline associated with different irrigation protocols. For this purpose, 150 extracted upper human molar teeth were previously accessed and had the palatal and mesiobuccal canals sealed with composite and only the distobuccal canal was used. The DB canal was instrumented to a #20 K file to establish the diameter of the initial anatomical file. After these procedures, the teeth were autoclaved and subsequently infected during 21 days with *Enterococcus faecalis*. Then, the teeth were randomly divided into 15 groups of 10 specimens each, according to the instrumentation technique and irrigation protocol used. Root canal microbial samples were collected and cultured before (initial – C1) and after instrumentation (canal – C2 and dentine ships – C3) in order to count the colony forming units (CFU). Statistical analyses were performed using the Kruskal Wallis/ Dunn tests for intergroup comparisons, and Friedman or Wilcoxon for intragroup comparisons, considering the significance level of 0.05. It was found that there was no difference between the instrumentation techniques employed, independent of auxiliary chemical substance used. Regarding the substances tested, both 2% chlorhexidine gel and 1% sodium hypochlorite were equally effective in reducing *Enterococcus faecalis*, while the saline obtained inferior results. It was concluded that the tested instrumentation techniques, regardless of the system used, have been effective in reducing the levels of *Enterococcus faecalis* in the root canal associated with sodium hypochlorite 1% or 2% chlorhexidine gel.

KEY - WORDS: instrumentation, root canal irrigants, *Enterococcus faecalis*, chlorhexidine, sodium hypochlorite

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>FIGURA 1</b> - Colônias de <i>Enterococcus faecalis</i> em BHIA sangue.....                                                                                                                                               | 39 |
| <b>FIGURA 2</b> - Motor X-Smart Dentsply/ Maillefer.....                                                                                                                                                                     | 42 |
| <b>FIGURA 3</b> - Sistema ProTaper + Gates. Esquema ilustrativo da instrumentação ....                                                                                                                                       | 43 |
| <b>FIGURA 4</b> - Contra-ângulo do Sistema EndoEze. ....                                                                                                                                                                     | 44 |
| <b>FIGURA 5</b> - Sistema EndoEze. Esquema ilustrativo.....                                                                                                                                                                  | 44 |
| <b>FIGURA 6</b> - Motor VDW Silver.....                                                                                                                                                                                      | 45 |
| <b>FIGURA 7</b> - Sistema Mtwo. Esquema Ilustrativo.....                                                                                                                                                                     | 46 |
| <b>FIGURA 8</b> - Sistema ProTaper. Esquema ilustrativo. ....                                                                                                                                                                | 47 |
| <b>FIGURA 9</b> - Instrumentação manual. Esquema ilustrativo.....                                                                                                                                                            | 48 |
| <b>FIGURA 10</b> - Substâncias utilizadas nos grupos G1 a G5: <b>A</b> – Hipoclorito de sódio 1% + Tiosulfato de sódio 0,6% (neutralizador), <b>B</b> - Agulha BD 24G, <b>C</b> - EDTA 17%, <b>D</b> - Soro fisiológico..... | 49 |
| <b>FIGURA 11</b> - Substâncias utilizadas nos grupos G6 a G10: <b>A</b> – Clorexidina gel 2%, <b>B</b> - EDTA 17%, <b>C</b> - Tween 80 0,5% + Lecitina de soja a 0,07%, <b>D</b> - Soro fisiológico.....                     | 50 |
| <b>FIGURA 12</b> - Coleta na luz do canal / dentina: <b>A</b> – Coleta na luz do canal, <b>B</b> - Raspas de dentina em BHI, <b>C</b> - Alíquota de 100µL, <b>D</b> – Plaqueamento em BHIA sangue. ....                      | 51 |



## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> - Distribuição dos grupos de acordo com os protocolos de irrigação e técnicas de instrumentação empregadas.....                                                                | 40 |
| <b>Tabela 2</b> – Apresentação das medianas (valor mínimo e valor máximo) do número de unidades formadoras de colônias comparando as técnicas dentro de cada tipo de substância utilizada..... | 57 |
| <b>Tabela 3</b> – Porcentagem de redução da contagem de UFC comparando as técnicas dentro de cada tipo de substância utilizada. ....                                                           | 58 |
| <b>Tabela 4</b> – Apresentação das medianas (valor mínimo e valor máximo) do número de unidades formadoras de colônias comparando as substâncias dentro de cada técnica utilizada. ....        | 60 |
| <b>Tabela 5</b> – Porcentagem de redução da contagem de UFC comparando as substâncias dentro de cada técnica avaliada.....                                                                     | 62 |



## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                             |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                                                  | <b>1</b>  |
| <b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>                                                                                                                       | <b>5</b>  |
| 2.1 A microbiota endodôntica .....                                                                                                                          | 5         |
| 2.2 O papel do <i>Enterococcus faecalis</i> nas infecções endodônticas .....                                                                                | 7         |
| 2.3 Anatomia dos canais e redução bacteriana.....                                                                                                           | 12        |
| 2.4 O papel dos sistemas de instrumentação na redução bacteriana .....                                                                                      | 23        |
| 2.5 O papel das substâncias químicas auxiliares na redução bacteriana                                                                                       | 27        |
| <b>3. PROPOSIÇÃO .....</b>                                                                                                                                  | <b>35</b> |
| <b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                                                                                                           | <b>37</b> |
| 4.1 Seleção e preparo inicial das amostras .....                                                                                                            | 37        |
| 4.2 Descrição das técnicas de instrumentação .....                                                                                                          | 41        |
| 4.2.1 Técnica Híbrida ProTaper + Gates (Machado, 2007) .....                                                                                                | 41        |
| 4.2.2 Sistema Endo EZE (sequência preconizada pelo fabricante)..                                                                                            | 43        |
| 4.2.3 Sistema MTWO (sequência preconizada pelo fabricante).....                                                                                             | 45        |
| 4.2.4 Sistema PROTAPER (sequência preconizada pelo fabricante)...                                                                                           | 47        |
| 4.2.5 Limas Manuais .....                                                                                                                                   | 48        |
| 4.3 Irrigação dos canais radiculares .....                                                                                                                  | 49        |
| 4.4 Coleta da luz do canal e coleta complementar .....                                                                                                      | 51        |
| 4.5 Análise estatística.....                                                                                                                                | 53        |
| <b>5. RESULTADOS.....</b>                                                                                                                                   | <b>55</b> |
| 5.1 Avaliação das substâncias químicas auxiliares na redução de<br><i>Enterococcus faecalis</i> na luz do canal radicular e na coleta<br>complementar ..... | 55        |
| 5.2 Avaliação dos sistemas testados na redução de <i>Enterococcus</i><br><i>faecalis</i> na luz do canal radicular e na coleta complementar .....           | 59        |
| <b>6. DISCUSSÃO .....</b>                                                                                                                                   | <b>63</b> |

|                             |            |
|-----------------------------|------------|
| <b>7. CONCLUSÃO .....</b>   | <b>71</b>  |
| <b>8. REFERÊNCIAS.....</b>  | <b>73</b>  |
| <b>9. ANEXO I.....</b>      | <b>99</b>  |
| <b>10.APÊNDICE I.....</b>   | <b>101</b> |
| <b>11.APÊNDICE II .....</b> | <b>103</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

A presença de bactérias é o principal fator no desenvolvimento da inflamação periapical (Takehashi *et al.*, 1965; Sundqvist, 1976). O sucesso do tratamento endodôntico depende fundamentalmente da limpeza, modelagem, desinfecção e obturação do sistema de canais radiculares. A etapa de preparo químico-mecânico é considerada uma das fases mais importantes da terapia endodôntica. Porém, mesmo seguindo todos esses passos a completa eliminação dos microrganismos é difícil de ser atingida (Byström & Sundqvist, 1981, 1983; Gomes *et al.*, 1996a,b; 2004).

O *Enterococcus faecalis* é uma bactéria anaeróbia facultativa, gram positiva, frequentemente associada à periodontite apical persistente (Engström *et al.*, 1964; Haapasalo *et al.*, 1983; Pinheiro *et al.*, 2003a,b; 2004; Gomes *et al.*, 2004; Pinheiro *et al.*, 2006; Gomes *et al.*, 2006b), aos casos de *flare up* (Matusow, 1995), às infecções secundárias e aos casos de retratamento com lesões refratárias (Sundqvist *et al.*, 1998), podendo sobreviver no interior dos túbulos dentinários e resistir ao tratamento mesmo após uma ampla variedade de agentes antimicrobianos terem sido empregados (Sundqvist, 1992b; Siren *et al.*, 1997; Vivacqua-Gomes *et al.*, 2005; Gurgel-Filho *et al.*, 2007).

Diversos instrumentos com as mais variadas características assim como diferentes protocolos de instrumentação vêm sendo propostos de forma a obter os melhores resultados possíveis dentro da terapia endodôntica. Percebe-se também uma simplificação das técnicas e diminuição do número de instrumentos utilizados, bem como no tempo de contato destes com o canal radicular. Dessa forma é de fundamental importância o papel da substância química auxiliar que, em conjunto com a ação mecânica dos instrumentos, atua na desinfecção do sistema de canais radiculares.

Dentre essas substâncias destaca-se o hipoclorito de sódio que desde a sua introdução na Endodontia por Walker (1936) vem sendo amplamente utilizado como substância química auxiliar devido às suas propriedades antimicrobianas (Byström & Sundqvist, 1983; Sjögren *et al.*, 1988; Simões *et al.*, 1989; Ferraz *et al.*, 2001; Gomes *et al.*, 2001; Vianna *et al.*, 2004; Dametto *et al.*, 2005; Gomes *et al.*, 2005; Sena *et al.*, 2006; Vianna *et al.*, 2006; 2007; Ferraz *et al.*, 2007; Rabang, 2009) e de dissolução tecidual (Gordon *et al.*, 1981; Okino *et al.*, 2004; Mohammadi & Abbott, 2009).

Assim também a clorexidina, que é utilizada em diferentes concentrações como antisséptico oral na forma de soluções para bochecho, irrigante subgengival, pasta de dente e goma de mascar (Jenkins *et al.*, 1988). Na Endodontia tem seu uso amplamente difundido como irrigante e medicação intra canal, especialmente pela sua ação antimicrobiana e o efeito de substantividade, além de ser amplamente tolerada pelos tecidos periapicais (Jeansonne & White, 1994; Barbosa *et al.*, 1997; Siqueira *et al.*, 1998; Ferraz *et al.*, 2001; Gomes *et al.*, 2001; Vivacqua-Gomes, 2002; Gomes *et al.*, 2003 a,b; Vianna *et al.*, 2004; Dametto *et al.*, 2005; Gomes *et al.*, 2005, 2006c; Sena *et al.*, 2006; Vianna *et al.*, 2006; 2007; Ferraz *et al.*, 2007; de Souza-Filho *et al.*, 2008; Gomes *et al.*, 2009a; Rabang, 2009; Signoretti *et al.*, 2011).

Mesmo com todo avanço tecnológico, a anatomia dos canais radiculares continua sendo um desafio à prática endodôntica. Isto porque, mesmo incorporando as novas tecnologias, os instrumentos atualmente disponíveis no mercado não tocam em todas as paredes do canal radicular. Com isso, as áreas não instrumentadas podem conter tecidos orgânicos, que servirão de substratos para as bactérias remanescentes. Estas irão iniciar ou perpetuar um processo infeccioso. Tal fato é crítico especialmente em dentes multirradiculares, onde a complexidade anatômica tende a ser maior (Dalton *et al.*, 1998; Siqueira *et al.*, 2000; Cleghorn *et al.*, 2006).

Este trabalho buscou avaliar diferentes técnicas/sistemas de instrumentação associados a diferentes protocolos de irrigação na redução de *Enterococcus faecalis* na luz do canal radicular da raiz disto-vestibular dos molares superiores.



## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 A MICROBIOTA ENDODÔNTICA**

Ainda no século XIX, Miller (1890) foi o primeiro a verificar a presença de microrganismos no interior dos canais radiculares correlacionando as enfermidades pulpares e periapicais à presença de bactérias. No entanto uma relação de causa e efeito só foi estabelecida em 1965 por Kakehashi *et al.*, que expuseram a polpa dental de ratos convencionais e ratos *germ-free* à cavidade oral, observando que somente os ratos convencionais desenvolveram necrose pulpar ou lesões perirradiculares, concluindo que a presença da bactéria é o fator determinante no surgimento de lesões periapicais.

A partir da década de 70, Wittgow & Sabiston (1975) se propuseram a investigar a microbiota de dentes humanos por meio de cultura, começam a surgir os primeiros trabalhos indicando uma maior participação dos microrganismos anaeróbios nas infecções primárias.

Com o avanço das técnicas de transporte, isolamento e cultivo de anaeróbios estritos, Sundqvist (1976) realizou um estudo clássico que revolucionou os conceitos que estavam em voga naquele momento, demonstrando o quanto é expressiva a presença de bactérias anaeróbias no interior dos canais radiculares com necrose pulpar. Trinta e dois canais radiculares de dentes unirradiculares com coroas hígidas e polpas necrosadas em decorrência de trauma dentário foram analisados microbiologicamente e foi constatado que 90% das cepas bacterianas isoladas eram anaeróbias estritas.

Na fase inicial de uma infecção no canal radicular, o número de espécies microbianas normalmente é pequeno. Se a via de invasão for por meio de cárie, as bactérias da lesão cariogênica são as primeiras a invadirem a polpa. Nos casos onde não há comunicação aparente com a cavidade oral, as bactérias penetram

através dos túbulos dentinários, como pode ocorrer nos casos de trauma sem exposição pulpar (Sundqvist, 1976).

A potencialização das infecções do canal radicular e da região periapical ocorre comumente em virtude do predomínio de bactérias anaeróbias (Sundqvist *et al.*, 1979; Dahlén & Bergenholtz, 1980; Ranta *et al.*, 1988; Ando & Hoshino, 1990). Muitos fatores contribuem para que haja essa seleção na microbiota endodôntica, tais como: nutrição, potencial de oxido redução, pH, temperatura, interações positivas, antagonismos entre os microrganismos e os mecanismos de defesa do hospedeiro (Marsh & Martin, 1992; Gomes *et al.*, 1996b, Signoretti, 2009).

Embora mais de 700 espécies diferentes tenham sido isoladas de canais radiculares, o número de espécies em condutos infectados pode variar de 1 a mais de 12. As interações entre fatores microbiológicos e disponibilidade de nutrientes são os principais elementos que definem a composição da microbiota bucal. O consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono e hidrogênio, juntamente com o desenvolvimento do potencial de óxido-redução pelos colonizadores precursores, favorecem o crescimento de microrganismos anaeróbios (Gomes *et al.*, 2006a; Lorenzo *et al.*, 2010).

Gomes *et al.* (2004) pesquisaram a microbiota do sistema de canais radiculares de 41 dentes com necrose pulpar e 19 dentes que foram submetidos ao retratamento, e encontraram 56 espécies diferentes de microrganismos. No isolamento das culturas observou-se predomínio de bactérias anaeróbias estritas (70%). Os autores concluíram que a microbiota de dentes com polpa necrosada (infecção primária) é diferente das infecções secundárias (retratamento) em número de espécie. Nas infecções primárias sempre foram encontradas mais de três espécies por canal, com microrganismos Gram positivos e negativos, já nas infecções secundárias foram encontradas de uma a duas espécies por canal, com predominância de microrganismos Gram positivos e anaeróbios facultativos.

## 2.2 O PAPEL DO *ENTEROCOCCUS FAECALIS* NAS INFECÇÕES ENDODÔNTICAS

As bactérias entéricas não estão comumente presentes na microbiota de canais radiculares de dentes primariamente infectados, ao passo que, fazem parte da composição da microbiota de dentes com infecção resistente ao tratamento endodôntico. Este fato pode estar relacionado a dois fatores: 1) a maior suscetibilidade de outras bactérias ao tratamento endodôntico e consequentemente maior resistência destas à terapia faria com que a pequena quantidade de bactérias entéricas na infecção original se multiplicasse; 2) as entero-bactérias invadiriam o canal radicular durante o tratamento endodôntico através de um isolamento inadequado do campo operatório, infiltração bacteriana advinda de um material restaurador temporário ou quando o dente é deixado aberto para uma suposta drenagem do canal (Siren *et al.*, 1997).

Enterococos causam uma ampla variedade de infecções em humanos e comumente podem afetar o trato urinário (Felmingham *et al.*, 1992); causar bacteremia (Graninger & Ragette, 1992); infectar o endocárdio (Eliopolous, 1992), o trato biliar (Khardori *et al.*, 1991), queimaduras (Jones *et al.*, 1986) e próteses (Richet *et al.*, 1990). É uma bactéria Gram positiva, anaeróbia facultativa e esse gênero bacteriano também podem estar correlacionado a infecções endodônticas, embora, participe em menor proporção da microbiota inicial a qual é predominantemente composta por espécies Gram negativas (Sundqvist, 1992a, Le Goff *et al.*, 1997). Em contrapartida, os enterococos são frequentemente isolados de canais de dentes obturados que apresentam patologia periapical crônica. *Enterococcus faecalis* é o responsável por 80-90% das infecções enterococais humanas (Ruoff *et al.*, 1990). Além de ser a espécie enterococal dominante é comumente encontrada em casos de retratamento dos canais radiculares (Dahlén *et al.*, 2000).

*Enterococcus faecalis* é um microrganismo comumente isolado de canais radiculares, principalmente em lesões refratárias, sendo relacionado aos insucessos endodônticos.

Peciulienė *et al.* (2000) em pesquisa realizada em pacientes da Lituânia, avaliaram a presença de microrganismos nos canais radiculares obturados, e demonstraram ocorrência de *E. faecalis* associados a lesões de periodontite apical em tratamentos endodônticos mal sucedidos, necessitando de retratamento. Dos microrganismos isolados, *E. faecalis* foi o mais frequente (70%), tendo sido isolado em 14 amostras, estando presente isoladamente ou associado a outras bactérias. Uma nova coleta microbiológica foi efetuada após o preparo biomecânico do canal, onde foram encontradas em sete dentes culturas positivas, sendo que *E. faecalis* estava presente em cinco delas. Os autores concluíram que canais radiculares parcialmente obturados contribuem para o insucesso da terapia endodôntica, favorecendo a presença de *E. faecalis*.

Love (2001) verificou que a capacidade do *E. faecalis* em causar infecção periapical em um dente tratado endodonticamente pode depender de sua capacidade de invadir túbulos dentinários e permanecer viável em seu interior. Os resultados deste estudo demonstraram que as células desta bactéria permanecem viáveis, mantêm a capacidade de invadir túbulos dentinários e aderem ao colágeno na presença de soro humano.

Siqueira *et al.* (2002) compararam *in vitro* a redução bacteriana produzida pela utilização de duas técnicas de instrumentação e irrigação com hipoclorito de sódio a 2,5% e digluconato de clorexidina a 2%, utilizando o *Enterococcus faecalis* como microrganismo. Todas as técnicas de instrumentação e soluções testadas reduziram significativamente a população bacteriana e foram superiores ao grupo controle que usou soro fisiológico como irrigante, demonstrando a importância em se utilizar soluções irrigadoras com propriedades antimicrobianas.

Figdor *et al.* (2002) verificaram que o *Enterococcus faecalis* é capaz de permanecer latente mesmo em períodos prolongados de falta de nutrientes e voltar a crescer quando os nutrientes se tornarem disponíveis.

Pinheiro *et al.* (2003) identificaram a microflora de canais radiculares de dentes tratados endodonticamente com insucesso, associando várias espécies com dados clínicos. Foram utilizados 60 dentes com tratamento endodôntico portadores de lesões periapicais persistentes que quando realizado o retratamento, tiveram suas amostras retiradas e cultivadas de acordo com técnicas específicas para espécies anaeróbias. As identificações das culturas foram através da coloração e morfologia de Gram e a determinação das espécies, através de testes bioquímicos (reações enzimáticas). Os autores encontraram um número predominantemente de espécies Gram-positivas. Das anaeróbias facultativas, *Enterococcus faecalis* foi a bactéria mais comumente isolada.

A virulência do *Enterococcus faecalis* pode ser explicada pela produção de elastase, proteases e hemolisinas que possuem papel relevante na patogênese das periodontites. Além desses fatores, várias cepas podem produzir betalactamase, tornando-os capazes de causar infecções difíceis de serem tratadas (Rams *et al.*, 1982; Sundqvist, 1992a). A aderência a células teciduais, a expressão de proteínas que asseguram a sobrevivência celular frente a alterações no suprimento nutricional, a habilidade de competir com outras células bacterianas e de alterar a resposta tecidual e ambiental são exemplos de fatores de virulência que permitem a persistência dos *E. faecalis* (Kayaoglu & Ørstavik, 2004).

McHugh *et al.* (2004) se propuseram a verificar *in vitro* qual o pH que inibe o crescimento de *E. faecalis*. O crescimento bacteriano foi avaliado pelo espectrofotômetro e visualmente por um período de 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas e em pH que variou de 9,5 a 12. Aparentemente em pH 10,5 a 11 houve retardo no crescimento de *E. Faecalis* e a partir do pH 11.5 não houve crescimento.

Pinheiro (2005) testou, *in vitro*, a suscetibilidade a diferentes antibióticos de *E. faecalis* isolados de dentes com canais obturados e com lesões periapicais. Para tanto, utilizaram 21 cepas de *E. faecalis* que foram testadas suas susceptibilidade a antibióticos através do método de E-Test System e produção de  $\beta$ -lactamase por nitrocefina. Todas as amostras foram susceptíveis a penicilina,

vancomicina, moxifloxacina, 95.2% a cloranfenicol, 85.7% a tetraciclina e doxiciclina e 80.9% a ciprofloxacina. Entretanto a MIC de amoxicilina e amoxicilina mais ácido clavulânico ( $0.75 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) foram mais baixas que a benzilpenicilina ( $3.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). A MIC da eritromicina variou de 0.38 a  $> 256 \mu\text{g mL}^{-1}$ , apenas 28.5% das cepas foram susceptíveis ( $\text{MIC} < 0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). A azitromicina apresentou uma limitada susceptibilidade que foi ativa apenas em 14.2% das cepas e nenhuma cepa produziu  $\beta$ -lactamase. Concluíram que cepas isoladas de *E.faecalis* foram completamente susceptíveis, *in vitro*, a amoxicilina, ácido clavulânico mais amoxicilina, vancomicina e moxifloxacina. A maior parte dos isolados foi susceptível a cloranfenicol, tetraciclina, doxiciclina e ciprofloxacina. A eritromicina e a azitromicina foram os menos efetivos.

Vivacqua-Gomes *et al.* (2005) determinaram a presença de *E. faecalis* após o tratamento do canal radicular realizado em única sessão e em múltiplas sessões. Foram utilizados 45 dentes pré-molares infectados com *E.faecalis* por 60 dias, sendo divididos em cinco grupos: Grupo 1 (irrigação com Clorexidina e obturação numa única sessão), Grupo 2 (irrigação com Clorexidina, medicação intracanal de Hidróxido de Cálcio por 14 dias e obturação), Grupo 3 (irrigação com Clorexidina e obturação após sete dias), Grupo 4 (irrigação com soro fisiológico e obturação após sete dias) e Grupo 5 (irrigação com soro fisiológico e obturação imediata sem cimento). Os dentes foram incubados por 60 dias a  $37^{\circ}\text{C}$ , tendo 5 mm da sua porção radicular (entre o terço médio e apical) seccionados para a remoção das amostras de dentina através de brocas, para análise microbiológica e contagem de colônias formadas. *E.faecalis* sobreviveu em 20% no Grupo 1, 25% no Grupo 2, 40% no Grupo 3, 60% no Grupo 4 e 100% no Grupo 5. Os autores concluíram que o *E.faecalis* não foi eliminado nos tratamentos de sessão única e nem em múltiplas sessões.

Sedgley *et al.* (2005), verificaram a capacidade de sobrevivência do *E.faecalis* sepultados em dentes unirradiculares obturados e sem nutrientes adicionados, onde utilizaram cepas isogênicas desta bactéria (OG1-S e OG1-X) nas quais foram inoculadas antes e após a obturação do canal radicular sendo

incubadas a 37° C em 100% de umidade por até 12 meses. Para detectar a viabilidade celular, utilizaram os métodos de cultura, de reação em cadeia da polimerase (PCR) e histológicos. Os resultados ao teste histológico demonstraram a presença de bactérias nos túbulos dentinários sob a luz de microscopia após 48 h, 6 e 12 meses. Quanto ao teste de PCR, ambos os tipos de genes bacterianos diferentes estiveram presentes quando inoculados antes e após a obturação do canal radicular e ao teste microbiológico, a viabilidade do *E.faecalis* foi confirmada em todos os grupos. Os autores concluíram que o *E.faecalis* inoculado em dentes obturados mantém a viabilidade por até 12 meses *in vitro*.

Gomes *et al.* (2006b) investigaram a presença de *Enterococcus faecalis* em infecções endodônticas por cultura e por nested PCR. Amostras microbiológicas foram obtidas de 50 dentes com polpas necróticas (infecção primária) e de 50 dentes com fracasso do tratamento endodôntico (infecção secundária). Técnicas de cultura foram utilizadas, incluindo diluição em série, incubação e identificação bioquímica. Para a detecção por PCR, as amostras foram analisadas usando primer espécie-específico 16S rRNA e primers para a região intergênica downstream. Cultura e PCR detectaram *E. faecalis* em 23/100 e em 79/100, respectivamente. *E faecalis* foi isolado de 2 (4%) dos cinquenta canais de dentes com polpa necrosada e de 21 (42%) dos 50 canais tratados endodonticamente. Detecção por PCR identificou a espécie-alvo em 41 (82%) e 38 (76%) dos 50 casos de infecção primária e secundária respectivamente. Concluiu-se que *E faecalis* foi detectado freqüentemente tanto em dentes com necrose pulpar como em dentes com falha de tratamento endodôntico, quando a análise por PCR foi utilizada.

Mahmoudpour *et al.* (2007) analisaram a incidência de *Enterococcus faecalis* em canais de dentes necróticos sintomáticos e assintomáticos utilizando PCR. Os resultados mostraram não haver diferença significativa na incidência de *E. faecalis* nos canais necróticos sintomáticos ou assintomáticos, divergindo do trabalho de Rôças *et al.* (2004) usando PCR, onde *E. faecalis* esteve significativamente mais associado a casos assintomáticos de infecções primárias

do que nos casos sintomáticos, estando a sua presença correlacionada a infecções persistentes.

## **2.3 ANATOMIA DOS CANAIS E REDUÇÃO BACTERIANA**

O sucesso do tratamento endodôntico depende fundamentalmente da limpeza, modelagem, desinfecção e obturação do sistema de canais radiculares (Schilder, 1974). A etapa de preparo químico-mecânico tem sido considerada uma das mais importantes, com muitas técnicas e instrumentos desenvolvidos para este fim, aliada a substâncias químicas auxiliares que por vezes atuam exatamente em áreas críticas onde o instrumento não alcança.

A anatomia dos canais também é um dos fatores determinantes na qualidade de limpeza e modelagem obtidas, a despeito do instrumento ou solução irrigadora utilizados para esse fim. Variações na anatomia interna dos canais radiculares podem interferir no sucesso do tratamento porque o tecido remanescente pode permanecer nos istmos, reentrâncias e ramificações dos canais achatados dificultando a instrumentação.

Os molares superiores são dentes que apresentam variações tanto no número de raízes quanto no número de canais radiculares, além de apresentarem diferentes conformações anatômicas de acordo com a raiz avaliada (Vertucci, 1984; Pécora *et al.*, 1992; Peikoff *et al.*, 1996; Sempira *et al.*, 2000). Se for considerada somente a raiz disto-vestibular, percebe-se que esta se apresenta reta na maioria dos casos, ligeiramente achatada no sentido mésio-distal, apresentando-se com conduto único na maioria dos casos (Bramante *et al.*, 2000; Cleghorn *et al.*, 2006; Baratto Filho *et al.*, 2009). A raiz disto-vestibular é menor que a mésio-vestibular e discretamente inclinada para vestibular na visão proximal. O ápice radicular tende, na maioria das vezes, para mesial. O canal disto-vestibular, via de regra é oval. Segundo Hession (1977), o diâmetro mínimo

da lima K file que penetrou no ápice da raiz DV variou de 20-25 e o máximo de 30, 40 e 50.

Hoje em dia, a microscopia operatória assim como a tomografia computadorizada de feixe cônico nos permite melhor avaliar as variações anatômicas, com a vantagem de poder realizar essas análises *in vivo* (Neelakantan *et al.*, 2010; Han *et al.*, 2012; Versiani *et al.*, 2012).

A preocupação com a efetividade das técnicas de preparo químico-mecânicos em canais atrésicos ou achatados não é recente. Walton (1976) avaliando as cinemáticas de imagem, alargamento ou instrumentação escalonada em canais retos e curvos, observou que a técnica escalonada foi mais efetiva e que a limpeza de canais retos foi mais fácil de ser realizada do que a de canais curvos.

A ação mecânica dos instrumentos endodônticos é incapaz de promover completa desinfecção de algumas áreas devido às complexidades anatômicas dos canais. Para tanto, é importante ressaltar a necessidade da utilização de substâncias químicas auxiliares com o intuito de se promover uma significativa redução dos depósitos bacterianos nos canais radiculares, uma vez que auxiliarão na lubrificação do canal durante a ação de corte dos instrumentos, na remoção de *smear layer*, na desinfecção, eliminação do exsudato e dissolução do tecido pulpar necrosado (Spangberg 1982; Byström & Sundqvist, 1983).

Em 1997, Siqueira *et al.*, testaram a eficácia de 5 técnicas de instrumentação na capacidade de limpeza especificamente do terço apical de canais curvos, utilizando raízes mesiais de molares inferiores recém-extraídos. As técnicas utilizadas foram: step-back com limas manuais de aço inoxidável, step-back com limas de NiTi, técnica ultrassônica, técnica das forças balanceadas e sistema Canal Master U. Os resultados não mostraram diferenças estatísticas entre as técnicas, e foi observado que, apesar de todos os sistemas terem sido efetivos na remoção da maior parte dos tecidos contaminados dos canais,

nenhuma foi capaz de realizar a completa limpeza, principalmente quando variações na anatomia interna estavam presentes.

Dalton *et al.* (1998) compararam a redução bacteriana *in vivo* de dentes instrumentados com instrumentos de Niti taper .04 e dentes instrumentados com lima K de aço inoxidável pela técnica ápice-coroa utilizando irrigação com soro fisiológico. Quarenta e oito pacientes com periodontite apical foram aleatoriamente designados para o tipo de instrumentação a receber. Amostras foram coletadas dos canais antes, durante e após a instrumentação. Os dentes com periodontite apical foram uniformemente infectados, enquanto que os dentes vitais de controle não foram. Uma redução similar e uniforme ocorreu com a limpeza progressiva, a despeito da técnica. Não houve diferença estatística quanto às unidades formadoras de colônias em nenhuma das duas técnicas, também nenhuma foi capaz de deixar os canais totalmente livres de bactérias.

Siqueira *et al.* (1999) avaliaram a redução bacteriana em canais radiculares inoculados com *E. faecalis*, quando utilizados as limas Nitiflex , limas GT e limas Profile taper .06 série 29. A irrigação foi realizada com solução salina estéril. Os resultados mostraram que a instrumentação isolada é capaz de remover mais de 90% das bactérias dos canais radiculares.

Shuping *et al.* (2000) investigaram o nível de redução bacteriana de dentes instrumentados com limas de NiTi e irrigação com hipoclorito de sódio a 1,25%. Também foi testado o uso de medicação intracanal a base de hidróxido de cálcio deixada por mais de uma semana. Os resultados mostraram que houve uma significativa redução bacteriana quando o hipoclorito de sódio foi usado como irrigante, em comparação com o soro fisiológico. Após instrumentação e irrigação com hipoclorito de sódio, 61,9% dos canais foram considerados livres de bactérias. O uso do hidróxido de cálcio por pelo menos uma semana proporcionou 92,5% dos canais livres de bactérias. Os resultados indicam que irrigação com hipoclorito de sódio acompanhada de instrumentação rotatória é um passo importante na redução das bactérias do canal durante o tratamento endodôntico.

Wu *et al.* (2000) investigaram o diâmetro apical dos canais radiculares para determinar a prevalência e extensão de canais ovais. Utilizaram 180 dentes humanos extraídos, 20 de cada grupo dental. Cada raiz foi seccionada horizontalmente a 1, 2, 3,4 e 5 mm do ápice. O diâmetro dos canais foi medido com o auxílio de um microscópio e 293 (25%) dos 1181 cortes transversais investigados, foram identificados como canal oval. Em alguns grupos dentais a porcentagem de canais ovais ultrapassava os 50%. Concluiu que o achatamento radicular é comum nos 5mm apicais, dando uma conformação oval a esse terço. Alguns canais achatados são difíceis de serem completamente instrumentados sem perfurar ou enfraquecer as raízes.

Para facilitar o acesso dos instrumentos à região apical e, conseqüentemente, aprimorar a limpeza e modelagem do SCR tem se preconizado o pré-alargamento da região cervical (Contreras, 2001), tanto nas técnicas manuais quanto nas rotatórias. Um dos fatores que justificam esse cuidado pode ser observado nos trabalhos de Nair *et al.* (1990) , Sjögren *et al.* (1990) e Simon (1995) que encontraram microrganismos remanescentes na porção apical do canal radicular e que estes microrganismos podem contribuir para a manutenção da inflamação apical e o insucesso do tratamento endodôntico.

Wu (2001) usou a técnica das forças balanceadas em incisivos inferiores, divididos em dois grupos. Os canais do grupo 1 foram instrumentados pela técnica de força balanceada até a lima 45 e no grupo 2 até a lima 60. Todos os canais foram obturados com guta-percha pela técnica da condensação lateral. Foram realizados dois cortes transversais na porção apical de cada raiz e foram observadas áreas não instrumentadas em 65% dos canais. O autor concluiu que áreas não instrumentadas podem ser encontradas nos canais achatados usando a técnica de instrumentação de força balanceada e essas áreas podem não ser completamente obturadas pela técnica da condensação lateral.

Coutinho-Filho *et al.* (2002) avaliaram o preparo do terço cervical de canais curvos de raízes mesiais de molares inferiores comparando as brocas de Gates-Glidden e o alargador de orifício (Orifice Shaper). O diâmetro médio entre o canal méso-vestibular preparado com gates e a furca foi de 0,72mm e o diâmetro do canal méso-lingual instrumentado com o alargador de orifício e a furca foi de 0,81mm. Não houve diferença significativa entre os dois grupos quanto ao diâmetro obtido.

Wu *et al.* (2002) avaliaram a eficiência da instrumentação manual e rotatória na modelagem dos canais radiculares. Setenta e cinco canais ovais foram divididos igualmente em três grupos. O terço médio foi seccionado duas vezes e a secção transversal fotografada antes e após a instrumentação. O terço apical de todos os dentes foi preparado com os instrumentos rotatórios LightSpeed 52,5 (incisivos inferiores) ou 57,5 (raiz distal de molares inferiores). O terço médio, foi modelado com o sistema Lightspeed, pela técnica step-back até que o instrumento 100 fosse alcançado (grupo 1). No grupo 2, o sistema Hero foi utilizado, realizando-se movimentos de limagem contra as paredes do canal e no grupo 3, utilizadas as Limas Hedströen, também com movimento de limagem circunferencial, pela técnica convencional. Através da sobreposição das imagens e com o uso de microscópio apropriado foi constatado que nenhuma técnica de instrumentação foi capaz de preparar completamente as paredes dentinárias no terço médio e não houve diferença estatisticamente significativa entre o uso das limas Hedströen ou limas Hero, apoiando a idéia de que o sistema Hero poderia substituir as limas Hedströen convencionais na limagem circunferencial das paredes do canal.

Coldero *et al.*, (2002) compararam *in vitro* a redução bacteriana utilizando 38 raízes palatinas de molares superiores com ápices maduros, divididos em 3 grupos, sendo 2 experimentais(A e B) e 1 controle (C). As raízes foram esterilizadas e reinfetadas com *Enterococcus faecalis*, servindo como marcador microbiológico. Todas as raízes dos grupos experimentais foram preparadas com

o sistema ProFile taper .04 e lima rotatória GT a uma velocidade de 350 rpm pela técnica step-down sendo que no grupo A após a instrumentação um alargamento apical adicional foi realizado com a lima 35/04. No grupo B, não houve alargamento apical adicional. Nos grupos A e B a irrigação foi realizada com hipoclorito de sódio a 4,4% e EDTA a 15%. No grupo C não houve instrumentação, apenas irrigação dos canais com hipoclorito de sódio a 4,4% e EDTA a 15%. Amostras foram coletadas de todos os canais para determinar o número de bactérias remanescentes. Não houve diferença estatística significativa na redução bacteriana quando o sistema rotatório de NiTi foi utilizado, com ou sem alargamento apical. O estudo conclui não ser necessária a remoção excessiva de dentina no terço apical quando um bom diâmetro coronário é obtido e que permita a irrigação satisfatória com agentes antimicrobianos.

Rödig *et al.* (2002), compararam o preparo de canais ovais em raízes distais de molares inferiores utilizando os sistemas LightSpeed, Profile .04 e Quantec SC. Foram utilizados 3 grupos, cada um com 20 molares inferiores extraídos, embebidos em uma mufla, utilizando metodologia proposta por Bramante *et al.*, (1987) e modificada por Hülsmann *et al.*, (1997). Os parâmetros utilizados neste estudo foram: comparação através de fotos pré e pós-operatórias com especial consideração à extensão vestíbulo-lingual dos preparos, segurança, capacidade de limpeza e tempo de trabalho. Os resultados mostraram na maioria dos espécimes áreas vestíbulo-linguais não instrumentadas ou incompletamente instrumentadas pelos três sistemas estudados, visto que eles produziram formas circulares. Quanto a remoção de debris, o sistema Quantec SC obteve melhor resultado, seguido pelo Profile. 04 e LightSpeed.

Ainda em 2002, Barbizam *et al.*, investigaram a capacidade de limpeza de canais achatados através de análise morfométrica. Utilizaram 20 incisivos inferiores divididos em 2 grupos. O grupo 1 foi instrumentado pela técnica coroa-ápice através do sistema Profile .04. No grupo 2 , técnica coroa-ápice com limas manuais do tipo K. Os dentes foram avaliados sob microscopia ótica e foi

determinada a porcentagem de áreas do canal radicular com debris. A análise estatística demonstrou que a técnica manual foi mais eficiente na limpeza dos canais achatados do que a técnica rotatória, mesmo assim, nenhuma limpou completamente o canal radicular.

Marchesan *et al.*, (2003) verificaram a qualidade da limpeza proporcionada pelo sistema Profile .04 associado com diferentes soluções irrigadoras: hipoclorito de sódio a 0,5%, hidróxido de cálcio + tergentol e clorexidina a 2% nos canais com achatamento méso-distal. Doze incisivos centrais inferiores foram divididos em três grupos e instrumentados até a lima Profile 0.4 #35 após o preparo cervical e processados histologicamente. Depois de avaliados no microscópio ótico a análise estatística mostrou que a capacidade de limpeza das soluções irrigadoras em ordem crescente foi a seguinte: hidróxido de cálcio + tergentol , clorexidina e hipoclorito de sódio a 0,5%.

Wu *et al.* (2003) avaliaram a capacidade de remoção da camada interna de dentina em canais ovais através das técnicas de força balanceada e imagem circunferencial. Foram utilizados incisivos inferiores com um canal e observou-se que áreas amplas de dentina não foram instrumentadas, a despeito da técnica.

Grecca (2003) avaliou comparativamente a efetividade da instrumentação rotatória, manual e ultrassônica, utilizando 40 dentes que apresentavam achatamento proximal bem definidos na porção radicular. O conteúdo das cavidades pulpaes foi removido e os canais preenchidos com corante tinta nanquim vermelha. Os dentes foram instrumentados com o sistema k3 e ProTaper (rotatória), ultrassônica com técnica coroa-ápice e manual-mecânico progressivo. As raízes foram seccionadas longitudinalmente no sentido vestibulo-lingual. A análise estatística da avaliação qualitativa mostrou que em todos os grupos experimentais, as técnicas empregadas não conseguiram a remoção total do corante das paredes. A avaliação global dos canais radiculares mostrou não haver diferença estatística significativa entre os grupos estudados. A avaliação da metade cervical mostrou que o sistema K3 não produziu bons resultados e a

limpeza da metade apical do canal foi mais efetiva com o sistema ProTaper. Na análise quantitativa, os resultados não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Ainda utilizando a metodologia de remoção de corante, Gonçalves *et al.*, (2003) avaliaram a limpeza de canais radiculares instrumentados com três diferentes técnicas. Foram selecionados trinta incisivos inferiores, os canais foram preenchidos com tinta nanquim, previamente acondicionada em tubetes anestésicos, sendo a mesma levada ao interior do canal radicular com auxílio de uma seringa carpule e uma agulha para anestesia. Após 48 horas, tempo esperado para que o corante secasse no canal, os dentes foram divididos em três grupos: G1 - instrumentação rotatória com GT; G2 - instrumentação manual e G3 - associação de ambas (mista). Após a instrumentação, os dentes foram seccionados longitudinalmente e realizada a avaliação da limpeza dos canais, através da remoção de corante nos terços cervical, médio e apical. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa na limpeza do canal entre as três técnicas de instrumentação estudadas, nos três terços avaliados.

A redução bacteriana dos canais radiculares *in vitro* através de 3 sistemas de instrumentação foi investigada por Colak *et al.* (2005). Canais radiculares inoculados com uma suspensão de *Enterococcus faecalis* por 24h, foram instrumentados com limas Hedström, sistema Giromatic e sistema Hero 642. A irrigação foi realizada com solução salina estéril. Amostras foram recolhidas antes e após a instrumentação. Todos os instrumentos testados foram capazes de reduzir significativamente o número de bactérias dos canais radiculares, porém os resultados desse estudo indicam que entre as técnicas não houve diferença significativa que demonstrasse superioridade de algum dos sistemas testados.

Berber (2005) testou *in vitro* o uso de substâncias químicas auxiliares do preparo mecânico (clorexidina (CLX) gel e líquida 2%, hipoclorito de sódio (NaOCl) 5,25%, 2,5% e 0,5% e soro fisiológico) e técnicas de instrumentação (Híbrida;

Cérvico-Apical (FOP-UNICAMP); instrumentação rotatória com HERO 642) na redução de *Enterococcus faecalis* no canal radicular e nos túbulos dentinários. Para tanto, 270 raízes de pré-molares inferiores foram autoclavadas e contaminadas por 21 dias com *Enterococcus faecalis*. Em seguida, foram divididas em 18 grupos nos quais as técnicas de instrumentação foram testadas variando o uso das substâncias químicas auxiliares. Amostras bacteriológicas do canal radicular foram coletadas antes e imediatamente após o preparo químico-mecânico, as quais foram cultivadas a fim de se determinar as unidades formadoras de colônia (UFC). Após a instrumentação, as raízes foram seccionadas em 3 blocos: apical, médio e cervical. Amostras de dentina foram removidas seqüencialmente com brocas tronco-cônicas. As raspas obtidas foram coletadas em tubos com BHI e plaqueadas em BHI ágar-sangue. As placas foram incubadas por 48 horas para posterior contagem das UFC. Na luz do canal radicular, todas as substâncias, inclusive o soro fisiológico quando associados à instrumentação mecânica, promoveram uma redução de quase 100% nas coletas microbiológicas imediatamente após o preparo químico-mecânico. Nas coletas resultantes das raspas de dentina, em todos os terços, técnicas e profundidades o NaOCl 5,25% e a CLX gel 2% obtiveram os melhores resultados na redução bacteriana dos túbulos dentinários seguidos do NaOCl 2,5%, CLX líquida 2% e NaOCl 0,5%. Concluiu-se que, o NaOCl 5,25% seguido pela CLX gel 2% juntamente com as técnicas Cérvico-Apical da FOP-UNICAMP e HERO, foram mais efetivos na eliminação do *E.faecalis* dos túbulos dentinários e do canal radicular.

Zmener *et al.* (2005) compararam *in vitro* a limpeza dos canais ovais através da instrumentação manual ou automatizada. Utilizaram 45 pré-molares superiores e inferiores com um conduto, divididos em 3 grupos: EndoEze ( G1), Profile (G2) e limas K-flexofile (G3). Como irrigantes foram utilizados o hipoclorito de sódio a 5,25% e o EDTA a 17%, alternadamente, seguido de irrigação com soro fisiológico. As raízes foram seccionadas longitudinalmente em 2 metades e os canais examinados com aumentos de 200x e 400x no microscópio eletrônico

de varredura. A presença de debris e smear layer foi registrada nas distâncias de 1, 5 e 10mm do comprimento de trabalho. Concluíram que os melhores resultados foram obtidos com o sistema EndoEze, no entanto, a limpeza completa dos canais não foi alcançada por nenhuma técnica ou instrumentos investigados.

Ainda comparando os sistemas rotatórios e as limas manuais na redução bacteriana, Chuste-Guillot *et al.* (2006) trabalharam com as limas Flexofile, sistema rotatório GT, sistema Hero 642 e sistema Profile em canais infectados de dentes extraídos por uma suspensão de *Streptococcus sanguis* e após 24h de incubação, amostras foram coletadas antes, durante e após a instrumentação. Todos os sistemas empregados, além das limas manuais, foram capazes de reduzir significativamente, mas sem eliminar, o número de bactérias dos canais radiculares.

Constante *et al.* (2007) avaliaram as alterações anatômicas promovidas nas paredes dentinárias de canais méso-vestibulares com curvatura severa de molares inferiores através de análise computadorizada de imagens radiográficas digitais. Foram testadas as técnicas seriada, escalonada e a técnica progressiva, que preconiza o uso diferenciado de limas manuais, combinando o uso de limas tipo K, Flex e NiTi, na dependência da curvatura radicular. Apesar de não ter havido diferenças significantes entre as técnicas na análise estatística, em uma análise descritiva a técnica do Preparo Progressivo mostrou-se mais regular, uniforme e eficaz.

Card *et al.* (2002) e Mickel *et al.* (2007) investigaram a influencia do alargamento apical na redução bacteriana encontrando uma correlação positiva entre esse dado, mesmo em diferentes grupos de dentes avaliados. No entanto, no estudo de Mickel *et al.* (2007) que também utilizou em sua metodologia a análise por microscopia de varredura observou que bactérias foram encontradas no canal radicular e nos túbulos dentinários mesmo em amostras que obtiveram culturas negativas.

Grande *et al.* (2008) mensuraram o diâmetro e o raio das raízes e dos canais e o diâmetro médio do canal radicular em cada terço, além do diâmetro da parede radicular nos diferentes níveis das raízes de premolares com grande achatamento radicular. Concluíram que uma anatomia oval foi freqüentemente observada mesmo nos terços apicais da maioria dos canais radiculares. Uma alta correlação foi estabelecida entre a forma do canal radicular e a raiz correspondente

Novos caminhos vêm sendo propostos no combate à infecção endodôntica como, por exemplo, o uso do laser para a desinfecção do SCR (Wang *et al.*, 2007; Gordon *et al.*, 2007). No entanto até o presente, nenhum sistema é capaz de promover a completa limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares (Usman *et al.*, 2004; Haapasalo *et al.*, 2005; Hülsmann *et al.*, 2005; Paqué *et al.*, 2010; Fornari *et al.*, 2010), especialmente na porção apical e em áreas achatadas (Wu & Wesselink, 1995; Hülsmann *et al.*, 1997; Ahlquist *et al.*, 2001; Gambarini & Laszkiewicz, 2002; Schäfer & Schlingemann, 2003; Foschi *et al.*, 2004; Schäfer & Vlassis, 2004; Paqué *et al.*, 2005; Mickel *et al.*, 2007; Haapasalo *et al.*, 2010).

## **2.4 O PAPEL DOS SISTEMAS DE INSTRUMENTAÇÃO NA REDUÇÃO BACTERIANA**

Há mais de um século a Endodontia se preocupa em estabelecer parâmetros para que os princípios de limpeza e modelagem, propostos por Schilder (1974) sejam seguidos. Esse tipo de preparo, que inclui a utilização de brocas Gates-Glidden passou a ser considerado um dos princípios fundamentais para a realização de um tratamento endodôntico com maior índice de sucesso (Leonardo, 2002).

É sabido que a instrumentação manual com limas de aço inoxidável apresenta limitações, principalmente em canais curvos e atresiadados, podendo levar a formação de degraus, batentes ou transporte do canal. Walia *et al.* (1988) preconizaram o uso da liga de NiTi na fabricação de instrumentos endodônticos e seu uso em canais curvos, dada a maior flexibilidade destes instrumentos. Vários sistemas rotatórios de NiTi, com conicidades maiores e mais semelhantes a morfologia do canal foram desenvolvidos, visto que, no passado as tentativas de utilizar limas endodônticas de aço inoxidável acopladas a motores não atingiram o êxito esperado (Levy, 1985; Cohen & Burns, 1994).

O sistema ProTaper diferencia-se dos sistemas hoje comercializados por apresentar variações na conicidade ao longo da sua parte ativa permitindo, com isto, a criação de 2 diferentes instrumentos. Os dois tipos são diferenciados pelas suas funções durante a modelagem do canal radicular e apresentam múltiplas e progressivas conicidades que variam de 2 a 19%. A área mais cônica destes é que estará efetivamente alargando e modelando o canal radicular nos segmentos preestabelecidos. O jogo standard é composto por 3 instrumentos ProTaper denominados “Shaping” e por 3 “Finishing”. Nos cabos existem anéis coloridos dentro do sistema de cor padronizado pelo sistema ISO que identificam o instrumento e direcionam o operador a utilizá-los na sequência proposta pelo fabricante (Clauder & Baumann, 2004).

Aydin *et al.* (2007) testaram a hipótese de que uma instrumentação mais agressiva promovida pelo sistema ProTaper reduziria mais efetivamente a população bacteriana dos canais quando comparada a um preparo mais conservador (sistema Hero 642). Os espécimes foram contaminados com *Enterococcus faecalis*, por sete dias. Realizou-se preparo químico-mecânico e o diâmetro de ampliação apical foi padronizado até o instrumento 30, em ambos os grupos. A irrigação foi realizada com soro fisiológico. Os resultados mostraram que houve redução bacteriana em mais de 98% nos dois grupos e não houve diferenças estatísticas entre eles. Os autores concluíram que o preparo mais agressivo não reduziu a microbiota do canal de forma mais efetiva do que quando utilizada uma técnica mais conservadora.

O sistema EndoEze é composto por 4 limas de aço inoxidável, com secção transversal quadrangular, ângulo de corte negativo e conicidades 0,25, 0,35, 0,45 e 0,60 mm/mm e diâmetros iniciais de 0,10 e 0,13mm. Utilizadas para trabalhar nos terços cervical e médio acopladas a um contra-ângulo que apresenta uma cinemática de oscilação recíproca de 30° onde é realizada movimentação perimetral e de vai e vem. Apresenta ainda 4 limas manuais, também de aço inoxidável, com apenas 12 mm de parte ativa, apropriadas para trabalhar seletivamente no terço apical.

Este sistema utiliza a Tecnologia da Endodontia Anatômica (AET), que propõe um preparo circunferencial ou perimétrico do terço coronário e médio dos canais radiculares, removendo a dentina seletivamente e, dessa forma, prevenindo o enfraquecimento ou perfuração dessas áreas. (White, 2002; Tuttle, 2004; Riitano, 2005). Em muitos trabalhos percebe-se que os autores se referem à AET e ao sistema de instrumentos EndoEze como sendo sinônimos, por isso faz-se importante a descrição de ambos no intuito de se evitar confusões durante a leitura.

Em 2004, Pécora & Capelli descrevem uma técnica que associa dois diferentes sistemas no preparo dos canais radiculares: a instrumentação rotatória com NiTi e a instrumentação oscilatória com limas de aço inoxidável com variação

da conicidade. A utilização dos sistemas tem como objetivo otimizar a limpeza e modelagem do canal radicular preservando a estrutura dental, além de reduzir de maneira significativa a fratura/separação especialmente dos instrumentos rotatórios de Niti. Estes sistemas são o ProTaper e o EndoEze, além de instrumentos de conicidade .02 que poderão ser o K3, Hero 642, RACE ou ProFile.

O sistema Mtwo (Sweden & Martina, Padova, Italy) é composto por oito instrumentos com diâmetro da ponta ativa (tip) de # 10 a # 40 de acordo com o padrão ISO, e conicidade (taper) constante de 0.04 a 0.07. A seção reta transversal apresenta a forma de um S itálico com duas arestas laterais de corte que atuam na dentina de maneira muito eficaz e dois canais helicoidais que apresentam paredes com perfis sinuosos e permitem a remoção de resíduos oriundos da instrumentação dos canais radiculares. Todos os instrumentos Mtwo possuem ângulo de corte positivo, ponta inativa e um mínimo contato radial. A haste de fixação e acionamento apresenta anéis que identificam a conicidade do instrumento. A ponta do instrumento apresenta a figura de um cone circular e sua extremidade é arredondada. (Dobó-Nagy *et al.*, 2002; Lopes e Siqueira, 2010). Foi concebido para trabalhar em todo o comprimento de trabalho desde o primeiro instrumento (Foschi *et al.*, 2004; Schäfer *et al.*, 2006).

Machado *et al.* (2010) utilizando 28 raízes disto-vestibulares de molares superiores humanos extraídos, contaminadas com *Enterococcus faecalis* por 72h, compararam a capacidade de desinfecção obtida pelos sistemas ProTaper ou Mtwo. Após o período de incubação, amostras bacterianas foram coletadas e plaqueadas para análise de formação de colônias. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre a redução bacteriana proporcionada entre os dois sistemas, sendo: 81,94% para o ProTaper e 84,29% para o Mtwo.

Martinho *et al.* (2010) investigaram se o preparo químico-mecânico realizado com o sistema Mtwo associado ao hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA 17% seria eficaz em remover endotoxinas nas infecções endodônticas primárias e

presença de lesão periapical. Amostras foram coletadas antes e após o preparo químico-mecânico e foi verificado que endotoxinas estavam presentes em 100% dos casos mesmo após o preparo químico-mecânico. No entanto houve redução de 98,06% após o preparo, o que foi estatisticamente significativo. Por outro lado, Gomes *et al.* (2009b), num estudo clínico avaliando canais radiculares primariamente infectados mostraram uma maior percentagem de redução de endotoxinas no grupo tratado com NaOCl 2,5% (57,98%), quando comparada a do grupo tratado com clorexidina gel 2% (47,12%), utilizando limas manuais tipo K. Os autores concluíram que tanto NaOCl 2,5% como clorexidina gel 2% não têm qualquer efeito desintoxicante em endotoxinas. Portanto, pode dizer-se que a remoção de mais de 47% de LPS dos canais radiculares infectados está relacionada com a ação mecânica dos instrumentos nas paredes dentinárias e como o fluxo e refluxo das substâncias químicas utilizadas.

☒ Singla *et al.* (2010) buscavam um sistema e uma técnica de instrumentação que produzisse uma efetiva redução bacteriana sem contudo, levar ao enfraquecimento radicular a medida que instrumentos mais calibrosos eram utilizados. Em seu estudo avaliaram os sistemas ProFile, ProTaper e Limas manuais tipo K, sendo os melhores resultados obtidos com os sistemas ProTaper e ProFile no aspecto da redução bacteriana, sem diferenças estatísticas entre eles. Em relação ao enfraquecimento radicular, observaram que o sistema Profile obteve os melhores resultados.

Krajczar *et al.* (2012) avaliaram a desinfecção promovida pelo sistema Mtwo em comparação com limas tipo K utilizadas manualmente. Foram utilizados 40 dentes humanos unirradiculares e com canal único, que foram inoculados com *Enterococcus faecalis* por 6 dias. Após, os dentes foram divididos em 2 grupos e preparados com os respectivos sistemas. A solução química auxiliar utilizada foi o hipoclorito de sódio 2,5% nos 2 grupos. Mesmo considerando as particularidades de cada sistema, não houve diferença estatística na redução bacteriana comparando-se os grupos.

## **2.5 O PAPEL DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES NA REDUÇÃO BACTERIANA**

As substâncias químicas são empregadas com a finalidade de promover a dissolução de tecidos vivos ou necrosados; eliminar ou reduzir microrganismos através de suas propriedades antimicrobianas, ter ação de lubrificação durante o corte dos instrumentos, promover a remoção de smear layer, ter a menor ação citotóxica aos tecidos periapicais, entre outras. Para tanto devem possuir propriedades físicas e químicas para essas finalidades. Dentre os principais requisitos que uma substância química deve ter estão: atividade antimicrobiana, ação de solvência dos tecidos, tensão superficial, poder de limpeza e tolerância tecidual (Paiva & Antoniazzi, 1991).

O hipoclorito de sódio foi introduzido na Endodontia por Walker (1936) e desde então é amplamente utilizado nas mais diversas concentrações. Dentre as várias ações do hipoclorito de sódio destacam-se sua ação antimicrobiana (Gomes *et al.*, 2001; Vianna *et al.*, 2004) especialmente frente a organismos encontrados no canal radicular (Byström & Sundqvist, 1983; Foley *et al.*, 1983; Hauman & Love, 2003) e capacidade de dissolução tecidual (Beltz *et al.* 2003, Naenni *et al.* 2004) que é atribuída ao hidróxido de sódio oriundo da reação do NaOCl com água (Abou-Rass & Piccinino, 1982 ; Baumgatner & Cuenin, 1992). Apesar da capacidade antimicrobiana e da ação de dissolução tecidual apresentada pelo NaOCl, discute-se a segurança da sua utilização, haja vista os diversos relatos de acidentes e danos teciduais ocorridos e registrados na literatura (Witton & Brennan, 2005; Gursay *et al.*, 2006; Mehdipour *et al.*, 2007; Crincoli *et al.*, 2008; Kleier *et al.*, 2008; Baldwin *et al.*, 2009; De Sermeño *et al.*, 2009; Doherty *et al.*, 2009; Motta *et al.*, 2009), além dos efeitos citotóxicos (Spangberg *et al.*, 1973; Pashley *et al.*, 1985; Becking, 1991; Bondestam *et al.*, 1996; Ferraz *et al.*, 2001; Hülsmann & Hahn, 2000; Tanomaru Filho *et al.*, 2002).

O poder de dissolução tecidual do hipoclorito de sódio depende da quantidade de matéria orgânica presente, da frequência e intensidade da agitação mecânica (fluxo do líquido) e da superfície de contato disponível do tecido (Moorer & Wesselink, 1982).

A clorexidina é uma bisguanida catiônica que atua aderindo-se a parede celular de microrganismos, alterando a permeabilidade da membrana celular, resultando na perda dos componentes intracelulares e no desequilíbrio osmótico da célula. Em baixas concentrações possui efeito bacteriostático e em concentrações mais elevadas exerce poder bactericida pela precipitação ou coagulação do conteúdo citoplasmático, resultando na morte celular (McDonnell & Russel, 1999; Gomes *et al.*, 2003 a,b). Sua atividade antimicrobiana ideal ocorre em pH 5,5 a 7,0 (Russel & Day, 1993) e seu amplo espectro antimicrobiano elimina microrganismos tanto gram positivos quanto gram negativos (Delany *et al.*, 1982 ; Jeansone & White, 1994; Ferraz *et al.* 2001; Gomes *et al.*, 2001; Vianna *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2005; 2006c; Sena *et al.*, 2006; Ferraz *et al.*, 2007; Souza-Filho *et al.*, 2008; Gomes *et al.*, 2009a).

Não tem propriedade de dissolução de tecido orgânico (Okino *et al.*, 2004; Mohammadi & Abbott, 2009), entretanto mantém-se ativa mesmo na presença de sangue (Denton, 1991) e matéria orgânica (Gelinas & Goulet, 1983).

Inúmeras vantagens podem ser descritas quanto ao uso da clorexidina incluindo-se a baixa toxicidade (Tanomaru Filho *et al.*, 2002) , odor e sabor mais toleráveis e o não manchamento de tecidos, o que fizeram com que fosse introduzida como irrigante endodôntico, apresentando resultados semelhantes ou superiores àqueles obtidos com o NaOCl (Jeansonne & White, 1994; Gomes *et al.*, 2001; Gomes *et al.*, 2005; Vianna *et al.*, 2004; Sena *et al.*, 2006; Ferraz *et al.*, 2007; Souza-Filho *et al.*, 2008).

Dentre as propriedades da clorexidina, uma das principais é a substantividade, que é a capacidade de se ligar à superfície do esmalte, dentina e a glicoproteínas e à medida que a sua concentração no meio cai, ela se desloca para esse meio, de forma a manter uma concentração mínima por um longo

período de tempo (Khademi *et al.*, 2006; Athanassiadis *et al.*, 2007; Gomes *et al.*, 2009 a,b). Rosenthal *et al.* (2004) avaliaram a substantividade da clorexidina 2% líquida dentro do canal radicular após 10 minutos de aplicação e verificaram que seus efeitos antimicrobianos permaneceram por mais de 12 semanas. Khademi *et al.* (2006) testaram a solução de clorexidina 2% em dentina radicular bovina, inoculada por *Enterococcus faecalis* por 14 dias e observaram atividade antimicrobiana por mais de 4 semanas.

Clorexidina também pode se difundir pelos túbulos dentinários e atingir a superfície externa da raiz, exercendo a ação antimicrobiana (Gomes *et al.*, 2009a).

A clorexidina pode ser utilizada tanto na forma líquida como em gel. Ferraz *et al.* (2001) foram os primeiros a proporem o uso da clorexidina gel no preparo dos canais radiculares. Anteriormente a forma gel tinha sido utilizada como medicação intracanal (Siqueira & de Uzeda, 1997).

A clorexidina gel consiste de uma base gel (natrosol 1%, uma hidroxietilcelulose, pH 6-9) e gluconato de clorexidina, num pH ótimo entre 5,5 a 7). O gel de natrosol é um polímero de carbono biocompatível, sendo uma substância solúvel em água, podendo ser removida dos canais radiculares com uma irrigação final com água destilada (Vivacqua-Gomes *et al.*, 2002). É comumente utilizado em formulações de xampus, géis e sabões.

A formulação em gel tem ação reológica, ou seja, devido a sua viscosidade mantém os resíduos oriundos da instrumentação em suspensão, reduzindo a formação do smear layer. Facilita também a instrumentação, lubrificando as paredes dos canais e reduzindo o atrito entre as paredes e o instrumento, diminuindo assim as fraturas dos instrumentos. A formulação gel mantém o princípio ativo do digluconato de clorexidina por mais tempo em contato com os microrganismos inibindo o crescimento bacteriano, compensando assim a inabilidade da clorexidina em remover tecidos orgânicos (Vianna *et al.*, 2004).

Siqueira *et al.*, (2000) avaliaram, *in vitro*, a redução bacteriana intracanal produzida pela instrumentação e irrigação com hipoclorito de sódio a 1%, 2,5% e 5,25% ou solução salina. Os canais foram infectados com *Enterococcus faecalis*

por 24h, instrumentados e irrigados com as soluções testadas. Amostras foram coletadas antes e após a instrumentação. Após diluições seriadas, amostras foram plaqueadas em ágar *Mitis salivaris*, e foi contado o crescimento das unidades formadoras de colônias. O efeito inibitório das três soluções de hipoclorito de sódio testadas também foi avaliado pelo teste da difusão em ágar. Todas as soluções testadas reduziram significativamente o número de bactérias dos canais. Não houve diferença estatística significativa entre os três grupos testados.

Vianna *et al.* (2004) compararam *in vitro* a atividade antimicrobiana da clorexidina gel e líquida nas concentrações de 0,2%, 1% e 2% com o hipoclorito de sódio 0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5,25% na eliminação de microrganismos patogênicos, entre eles o *Enterococcus faecalis*. O estudo demonstrou que tanto o hipoclorito de sódio quanto a clorexidina líquida ou gel podem ser utilizados como soluções irrigadoras nas suas mais diversas concentrações, devido às suas propriedades antimicrobianas, excetuando-se a CLX gel 0,2% que levou 2h para eliminar os microrganismos. Também avaliando a clorexidina gel, Wang et al. (2007) observaram a efetividade dessa associação na redução bacteriana em pacientes com periodontite apical.

Dametto *et al.* (2005) investigaram o potencial antimicrobiano imediato e mediato do gluconato de clorexidina gel 2% , gluconato de clorexidina líquida 2% e o hipoclorito de sódio 5,25% na eliminação *in vitro* do *Enterococcus faecalis* em dentes humanos previamente contaminados e verificou que a clorexidina gel e líquida 2% apresentou efeito residual mantendo menores contagens de UFC (unidades formadoras de colônias) de *Enterococcus faecalis* quando comparada ao hipoclorito de sódio 5,25%, sete dias após o preparo químico-mecânico, com diferenças estatisticamente significantes.

Falk & Sedgley (2005) testaram a hipótese de que a eficácia mecânica da irrigação na redução bacteriana depende do diâmetro de preparo do canal. Canais radiculares de 30 dentes permanentes foram preparados nos diâmetros 36, 60 e 77 usando sistema Profile taper .04 série 29. Os canais foram inoculados com uma suspensão de 15µl de *Pseudomonas fluorescens* 5RL. A bioluminescência

foi medida antes e após a inoculação e antes da irrigação com 6ml de irrigante. Foi verificado que não houve diferença estatística entre os diâmetros 60 e 77. A irrigação foi menos efetiva nos canais preparados como diâmetro 36.

Siqueira (2005) avaliou *in vivo* o efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio 1%, da clorexidina 2% e do detergente derivado do óleo de mamona 10% (Endoquil) na irrigação de canais radiculares de 18 dentes anteriores superiores humanos com necrose pulpar e lesão periapical. A instrumentação foi efetuada com limas tipo K, juntamente com a aplicação de 1,8ml de cada uma das soluções irrigadoras. As amostras foram semeadas em placas contendo o meio Tryptic Soy Ágar e incubadas em aerobiose e anaerobiose para contagem do número de unidades formadoras de colônia. Todas as substâncias irrigadoras utilizadas mostraram uma redução significativa do número de bactérias após a realização do preparo químico mecânico tanto em anaerobiose quanto em aerobiose. No entanto após 72h houve aumento no número de bactérias tanto em aerobiose quanto em anaerobiose para todas as soluções empregadas, sendo que a clorexidina 2% e o detergente derivado do óleo de mamona 10% foram significativamente melhores que o hipoclorito de sódio 1% quanto à presença bacteriana.

Rabang (2009) avaliou microbiologicamente canais radiculares de 21 pré-molares inferiores de cães antes (C1) e após preparo químico-mecânico (C2) pelos métodos de cultura e de *Checkerboard DNA-DNA hybridization* e analisou radiograficamente lesões periapicais induzidas, avaliando a relação entre comprimento de dente e tamanho de lesão periapical. Os dentes foram divididos em 3 grupos de acordo com a substância química auxiliar testada : G1 – NaCl 0,09%, G2- Clorexidina 2% gel e G3- NaOCL 5,25% + EDTA 17%. No G1 houve redução de 89% de células bacterianas, enquanto a clorexidina 2% gel (G2) e o NaOCL 5,25% (G3) permitiram redução de 97% e 99% respectivamente, não diferindo entre si ao nível de significância de 5%. A microbiota de canais radiculares de dentes de cães com lesão periapical induzida por exposição ao meio oral por 120 dias apresentou grande número de espécies e o preparo

químico mecânico promoveu uma grande redução de microrganismos além de apresentar relação positiva entre comprimento de dente e tamanho de lesão periapical.

Retamozo *et al.* (2010) investigaram a concentração e o tempo de irrigação necessários para o hipoclorito de sódio ser efetivo contra *Enterococcus faecalis*. Utilizando cilindros de dentina contaminada onde a bactéria foi incubada por 21 dias, perceberam que o regime de irrigação mais eficiente foi utilizando o hipoclorito de sódio 5,25% por 40 minutos.

Nakamura (2010) avaliou *in vitro* a desinfecção de canais radiculares de pré-molares inferiores humanos, variando a técnica de preparo e os regimes de irrigação. Utilizou 85 espécimes que foram contaminados com *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* por 28 dias. Os canais foram divididos em oito grupos de acordo com o regime de irrigação e sistema de preparo mecânico utilizado. Dentre as substâncias irrigadoras, foram utilizadas o soro fisiológico, hipoclorito de sódio 1% e 2,5% e ácido cítrico 15% e dentre os sistemas, ProTaper ou limas manuais tipo K. Coletas microbianas foram realizadas antes e após o PQM, com auxílio de pontas de papel esterilizadas. Raspas de dentina foram coletadas após o PQM com o intuito de verificar a ocorrência de microrganismos no interior dos túbulos dentinários. Não houve diferença estatística entre as técnicas de instrumentação, quanto à diminuição microbiana no interior dos canais. Quanto aos regimes de irrigação, o soro fisiológico produziu os piores resultados, seguido pelo NaOCl 1,0%. Já quando acompanhado pelo ácido cítrico, a desinfecção alcançada não demonstrou diferença estatística quanto aos grupos irrigados com NaOCl 5,25%.

Zou *et al.* (2010) avaliaram o efeito da concentração, tempo de contato e temperatura na penetração do hipoclorito de sódio nos túbulos dentinários. Trinta dentes humanos permanentes ântero-superiores com canal único foram instrumentados pelo sistema ProTaper. Utilizando as concentrações de 1, 2, 4 e 6% por 2, 5 e 20 minutos a 20, 37 e 45°C respectivamente. A menor penetração

foi com NaOCl 1% por 2 minutos à temperatura ambiente. Já a maior foi com NaOCl 6% por 20 minutos a 45°C.

Martinho *et al.* (2011) avaliaram o efeito antimicrobiano de diferentes substâncias químicas auxiliares durante o preparo mecânico de canais radiculares utilizando 55 raízes de dentes de cães portadores de lesões periapicais. As substâncias empregadas foram a CHX 2% gel, CHX 2% solução, solução salina, NaOCl 2,5% e natrosol gel. Foram realizadas coletas microbiológicas antes e após o preparo químico-mecânico e após o emprego de uma medicação à base de hidróxido de cálcio por 14 dias. Após cada coleta, as amostras foram processadas e realizadas as contagens das unidades formadoras de colônias (UFC). Dentre as substâncias testadas, NaOCl 2,5% e CHX gel 2% demonstraram maior potencial antimicrobiano contra patógenos endodônticos *in vivo*.

Vários trabalhos foram publicados comparando a eficácia das soluções antimicrobianas na redução do *Enterococcus faecalis* (Siqueira, 2005; Arias-Moliz *et al.*, 2009; Vijaykumar *et al.*, 2010; Alves *et al.*, 2011; Dornelles-Morgental *et al.*, 2011), no entanto, na literatura ainda não existe um consenso sobre qual substância química irrigadora e a técnica de instrumentação são mais efetivas.



### **3. PROPOSIÇÃO**

Este trabalho buscou avaliar diferentes técnicas de instrumentação associadas a diferentes protocolos de irrigação na redução de *Enterococcus faecalis* na luz do canal radicular da raiz disto-vestibular dos molares superiores.



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP/UNICAMP), protocolo nº 114/2012, conforme ANEXO I.

### 4.1 SELEÇÃO E PREPARO INICIAL DAS AMOSTRAS

Os espécimes foram constituídos por 155 raízes disto-vestibulares de molares superiores. Sua seleção foi realizada depois de análise radiográfica para verificar se o conduto era único e não apresentava calcificações, desvios ou material obturador. Qualquer tecido periodontal ou ósseo que pudesse estar aderido às raízes foi removido com o auxílio de curetas periodontais tipo Gracey. Apesar da raiz estudada ser a disto-vestibular, o dente foi utilizado em sua totalidade, ou seja, a raiz não foi seccionada, para que houvesse simulação das condições clínicas encontradas durante o tratamento endodôntico (Dalton *et al.*, 1998; Rollison *et al.*, 2002).

Inicialmente foi realizada a abertura coronária dos dentes investigados, estando estes envoltos em gaze umedecida com soro durante toda a instrumentação. As entradas dos canais palatino e méso-vestibular foram seladas com resina composta (Filtek Z 250, 3M ESPE do Brasil, Sumaré, SP) para que não interferissem em nosso estudo.

Foi realizada a patência apical do canal disto-vestibular com lima K #10 e estabelecido o diâmetro da lima anatômica inicial (Lima K#20). Os canais foram submetidos ao protocolo de remoção de *smear layer* (Perez *et al.*, 1993; Ferraz *et al.*, 2001; Nakamura, 2010; Matos Neto *et al.*, 2012) para permitir posterior contaminação por *Enterococcus faecalis*. Foram lavados em EDTA 17% por 10 minutos, depois em NaOCl 5,25% por mais 10 minutos sob constante agitação (Agitador-Aquecedor Fanem, Fanem Ltda, São Paulo, SP), seguidos de nova

lavagem com solução de fosfato tamponado por mais 10 minutos e imersos em água destilada por 1 hora para remoção de resíduos de EDTA e NaOCl.

Os dentes, em grupos de 10, foram colocados em 15 frascos de vidro com tampas rosqueáveis contendo 100 ml de BHI. Estes foram autoclavados por 30 minutos a 121°C. Terminada a autoclavagem, os frascos foram mantidos por 48 horas em estufa de CO<sub>2</sub> a 37°C, para comprovação da esterilidade dos espécimes (Haapasalo & Ørstavik, 1987).

Para a contaminação dos dentes, foram utilizadas culturas puras de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) em caldo de BHI. O microrganismo foi subcultivado em BHI Agar + 5% de sangue desfibrinado de carneiro e incubado a 37°C em atmosfera de 10% de CO<sub>2</sub> por 24 horas.

Decorrido o tempo de inoculação, o número de colônias equivalentes ao padrão de concentração 2,0 da escala McFarland ( $6,0 \times 10^8$  bactérias/ mL), com absorbância de 800nm através do espectrofotômetro (FEMTO 432, Marconi, Piracicaba, SP) foram transportadas para vidros rosqueáveis contendo 100 ml de BHI.

Na câmara de fluxo laminar, após agitação mecânica dos tubos contendo inóculo bacteriano (VORTEX MA 162, Marconi, Piracicaba, SP) e concentração adequada, 20 ml de BHI estéril foi substituído por 20 ml da suspensão de *Enterococcus faecalis*. Posteriormente, o frasco foi vedado e incubado em estufa a 37 °C por 21 dias, com trocas de 20 ml de BHI contaminado por 20 ml de BHI estéril a cada dois dias para se evitar a saturação do meio. Este procedimento foi executado nos 15 recipientes contendo 10 dentes em cada.

O crescimento bacteriano foi verificado pela presença de turbidez do meio. A pureza das culturas foi confirmada através da morfologia das colônias plaqueadas em BHIA sangue (**Figura 1**).



**Figura 1.** Colônias de *Enterococcus faecalis* em BHIA sangue.

Findo este período, os dentes foram divididos em 15 grupos de 10 espécimes cada, sendo que a seleção das amostras foi realizada de forma aleatória através do software RESEARCH RANDOMIZER disponível no site <http://www.randomizer.org/>, de acordo com o sistema utilizado para instrumentação e substância química auxiliar empregada. Na Tabela 1 pode ser observada a distribuição dos grupos.

**Tabela 1** – Distribuição dos grupos de acordo com os protocolos de irrigação e técnicas de instrumentação empregadas.

| GRUPOS | PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO        | TÉCNICAS DE INSTRUMENTAÇÃO |
|--------|--------------------------------|----------------------------|
| 1      | HIPOCLORITO DE SÓDIO 1% + EDTA | PROTAPER + GATES           |
| 2      | HIPOCLORITO DE SÓDIO 1% + EDTA | ENDO EZE                   |
| 3      | HIPOCLORITO DE SÓDIO 1% + EDTA | MTWO                       |
| 4      | HIPOCLORITO DE SÓDIO 1% + EDTA | PROTAPER                   |
| 5      | HIPOCLORITO DE SÓDIO 1% + EDTA | LIMA MANUAL                |
| 6      | CLOREXIDINA GEL 2% + EDTA      | PROTAPER + GATES           |
| 7      | CLOREXIDINA GEL 2% + EDTA      | ENDO EZE                   |
| 8      | CLOREXIDINA GEL 2% + EDTA      | MTWO                       |
| 9      | CLOREXIDINA GEL 2% + EDTA      | PROTAPER                   |
| 10     | CLOREXIDINA GEL 2% + EDTA      | LIMA MANUAL                |
| 11     | SORO FISIOLÓGICO               | PROTAPER + GATES           |
| 12     | SORO FISIOLÓGICO               | ENDO EZE                   |
| 13     | SORO FISIOLÓGICO               | MTWO                       |
| 14     | SORO FISIOLÓGICO               | PROTAPER                   |
| 15     | SORO FISIOLÓGICO               | LIMA MANUAL                |

Os 5 dentes restantes foram utilizados como grupo controle para avaliar se realmente houve a contaminação por *Enterococcus faecalis*.

Para a execução do preparo, os dentes foram dispostos em uma plataforma metálica estéril, que foi levada para o interior da câmara de fluxo laminar. Cada raiz foi irrigada com 1 ml de solução salina estéril e a seguir coletadas amostras microbiológicas do canal radicular contaminado, com o auxílio de cones de papel absorventes estéreis número 15 deixados no canal por 1 minuto (coleta 1). Estes cones foram depositados individualmente em tubos estéreis do tipo eppendorf (Elkay Products Inc, Shrewsbury, MA, USA) contendo 2 ml de BHI e o processamento das amostras foi realizado imediatamente após a coleta.

## **4.2 DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS DE INSTRUMENTAÇÃO:**

### **4.2.1 Técnica Híbrida ProTaper + Gates (Machado, 2007)**

Os dentes dos grupos G1, G6 e G11 foram instrumentados pela técnica híbrida (Machado, 2007) dividindo o preparo dos canais radiculares em 2 fases, utilizando o motor elétrico X–Mart (Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Suíça) (**Figura 2**).

#### **FASE 1 - Preparo dos terços cervical e médio:**

Com os dentes posicionados na plataforma metálica, cirurgia de acesso já realizada, foram utilizadas as brocas Gates Glidden números 1, 2 e 3 (**Figura 3**) nos terços cervical e médio, com pequenos movimentos de vaivém até o início da curvatura, acopladas ao contra-ângulo e depois os dentes foram instrumentados com as limas #15 e #20 tipo K até aproximadamente 5mm do ápice. Após, foram utilizados os instrumentos SX e S2 (**Figura 3**) com cinemática de penetração apical, inicialmente com o motor desligado (Motor elétrico X–Mart, Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Suíça) (**Figura 2**) até o instrumento travar, o instrumento foi então recuado de 2 a 3 mm até que estivesse solto e só então o

motor foi acionado em uma velocidade de 350 rpm e torque 4. O movimento foi de pincelamento em todas as paredes do conduto.



**Figura 2** – Motor X-Smart Dentsply/ Maillefer.

## **FASE 2 - Preparo do terço apical:**

Foram utilizados os instrumentos S1, S2, F1 e F2 (**Figura 3**) a uma velocidade de 300 RPM e torque 1 no comprimento de trabalho, em movimentos de vaivém contínuos e efetuados por 3 vezes em cada conduto.



**Figura 3** – Sistema ProTaper + Gates. Esquema ilustrativo da instrumentação.

#### 4.2.2 Sistema Endo EZE (preconizada pelo fabricante):

Os dentes dos grupos G2, G7 e G12 após terem seus condutos explorados com limas #15 e #20 tipo K no comprimento de trabalho foram instrumentados pela Técnica AET – EndoEze de acordo com a sequência preconizada pelo fabricante conforme o exposto:

##### **FASE 1 - Uso dos instrumentos oscilatórios:**

Os instrumentos foram acoplados a um contra ângulo com redução de 4:1 (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, EUA) (**Figura 4**) em micromotor a ar (Kavo do Brasil Ind e Com, Joinville, SC), velocidade máxima e cinemática de oscilação de 30°.



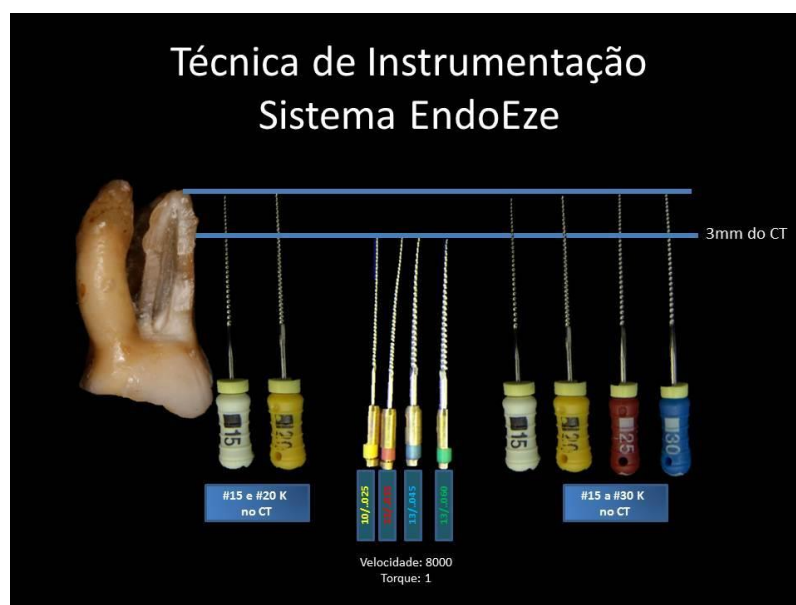
**Figura 4 –** Contra-ângulo do Sistema EndoEze.

Foram inseridos a 3mm aquém do ápice e utilizados com movimentos de vaivém “pincelando” as paredes dos canais, na seguinte sequência:

- Instrumento amarelo (S1) a 3mm do ápice
- Instrumento vermelho (SC) a 3mm do ápice
- Instrumento azul (S2) a 3mm do ápice
- Instrumento verde (S3) a 3mm do ápice

## **FASE 2 – Uso dos instrumentos manuais:**

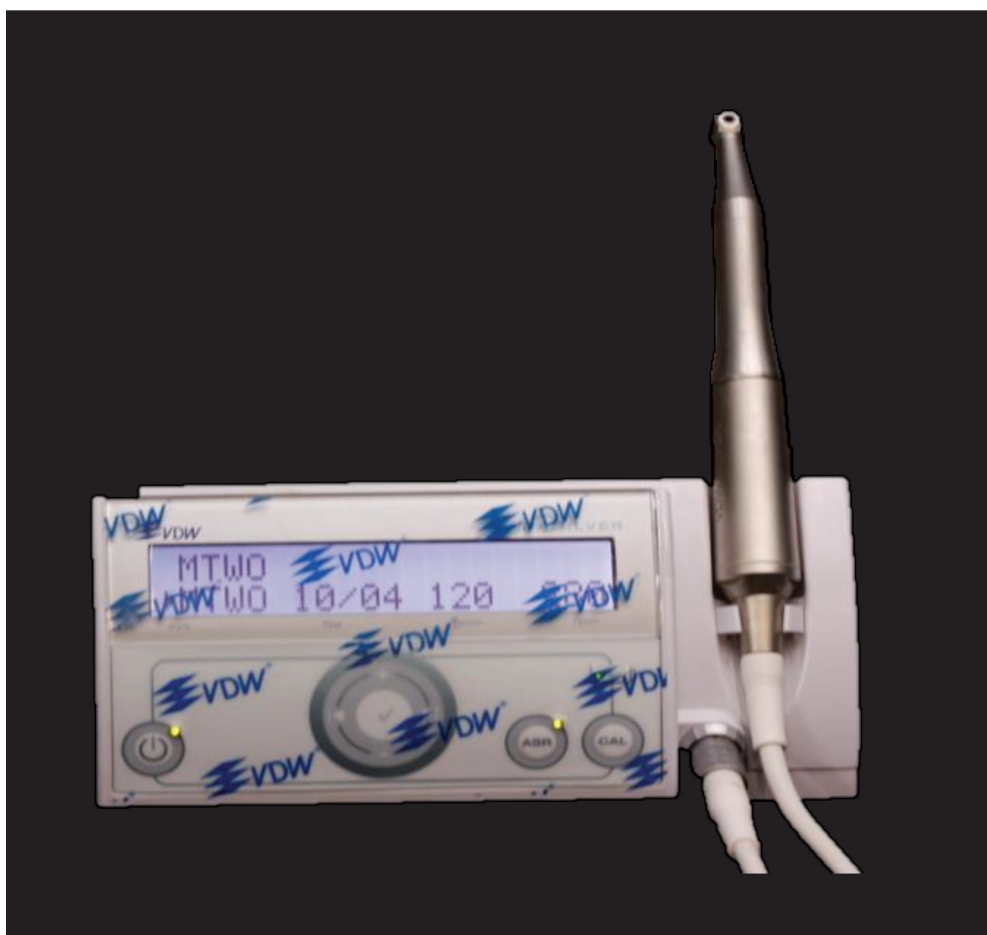
Após o preparo dos terços cervical e médio, foram utilizadas limas tipo K de 25mm de número #15 a 30 na instrumentação do terço apical, no comprimento de trabalho (**Figura 5**).



**Figura 5 –** Sistema EndoEze. Esquema ilustrativo.

#### 4.2.3 Sistema MTWO (sequência preconizada pelo fabricante):

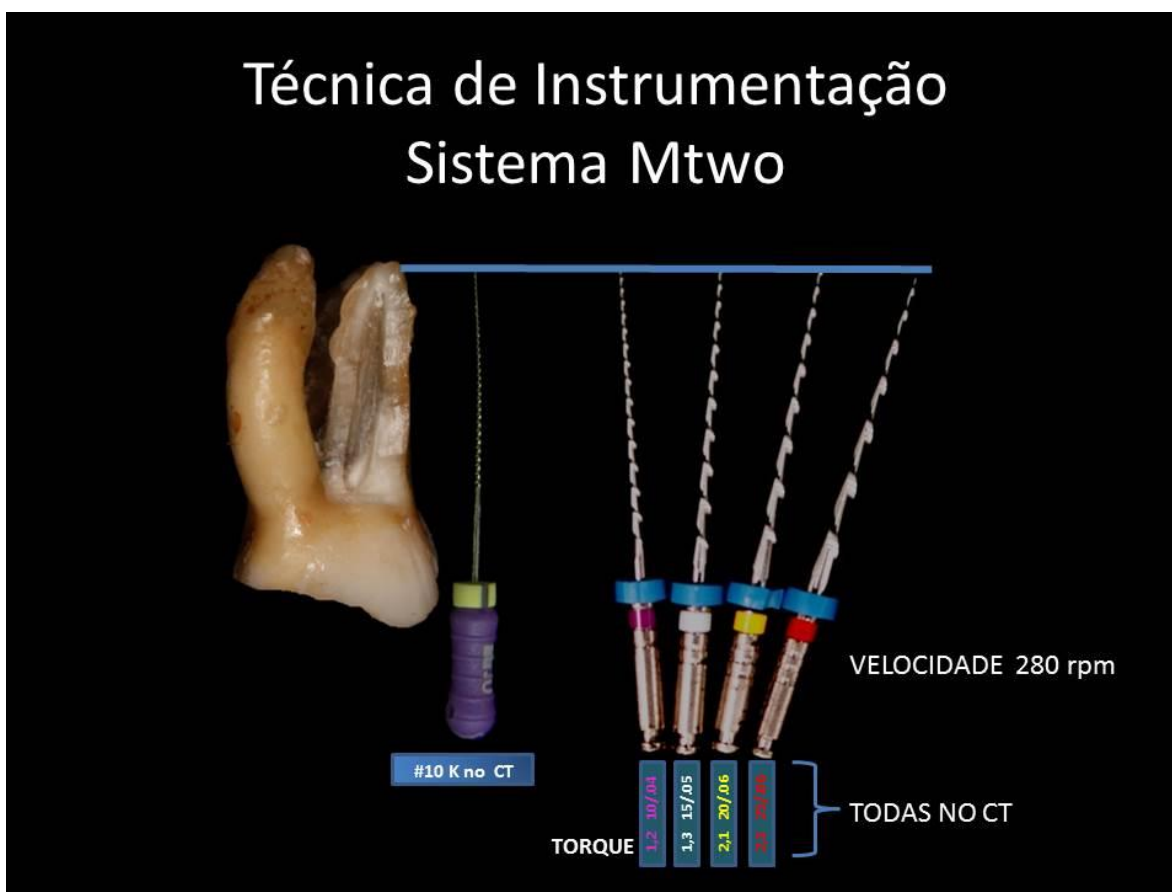
Os dentes dos grupos G3, G8 e G13 após terem o conduto disto-vestibular explorado com lima #10 tipo K, de acordo com a recomendação do fabricante, foram instrumentados com o sistema Mtwo acoplado no motor VDW Silver (VDW GmbH, Munique, Alemanha) (**Figura 6**).



**Figura 6** – Motor VDW Silver.

Este possui a seqüência básica de instrumentos utilizados já pré-programada para cada instrumento, A instrumentação foi realizada conforme o exposto (**Figura 7**):

- Instrumento 10/04, anel lilás em todo comprimento de trabalho
- Instrumento 15/05, anel branco em todo comprimento de trabalho
- Instrumento 20/06, anel amarelo em todo comprimento de trabalho
- Instrumento 25/06, anel vermelho em todo comprimento de trabalho



**Figura 7** – Sistema Mtwo. Esquema Ilustrativo.

#### 4.2.4 Sistema PROTAPER (sequência preconizada pelo fabricante):

Os dentes dos grupos G4, G9 e G14 foram instrumentados com a técnica preconizada pelo fabricante, sem o uso das brocas Gates acoplados no motor X-Smart (Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Suíça, **Figura 2**) com a função auto-reverso acionada, sendo 300 e 4 os respectivos valores de velocidade e torque utilizados.

A instrumentação foi realizada da seguinte forma (**Figura 8**):

- Exploração do conduto com #10 e #15 tipo K a 2/3 do comprimento de trabalho

- Instrumento S1 a 2/3 do comprimento de trabalho.

- Instrumento SX no terço cervical e início do terço médio.

Nessa etapa estes instrumentos foram utilizados com movimento de pincelamento das paredes para modelagem do terço cervical e médio

- Nova exploração do conduto com #10 e #15 tipo K no comprimento de trabalho.

- Instrumento S1 e S2 no comprimento de trabalho.

- Instrumento F1 no comprimento de trabalho.

- Instrumento F2 no comprimento de trabalho.



**Figura 8** – Sistema ProTaper. Esquema ilustrativo.

#### 4.2.3 Limas Manuais:

Nos grupos G5, G10 e G15 a instrumentação foi realizada com limas tipo K (Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Suíça) de 1<sup>a</sup>.e 2<sup>a</sup> série.

A patência foi confirmada com uma lima 20 e o preparo dos dois primeiros terços foi realizado na sequencia de limas #20 a #50 para que houvesse espaço suficiente para a introdução da agulha de irrigação. No terço apical, foram utilizadas 3 limas subsequentes à inicial, sendo assim finalizando o preparo com uma lima 35 (**Figura 9**).



**Figura 9** – Instrumentação manual. Esquema ilustrativo.

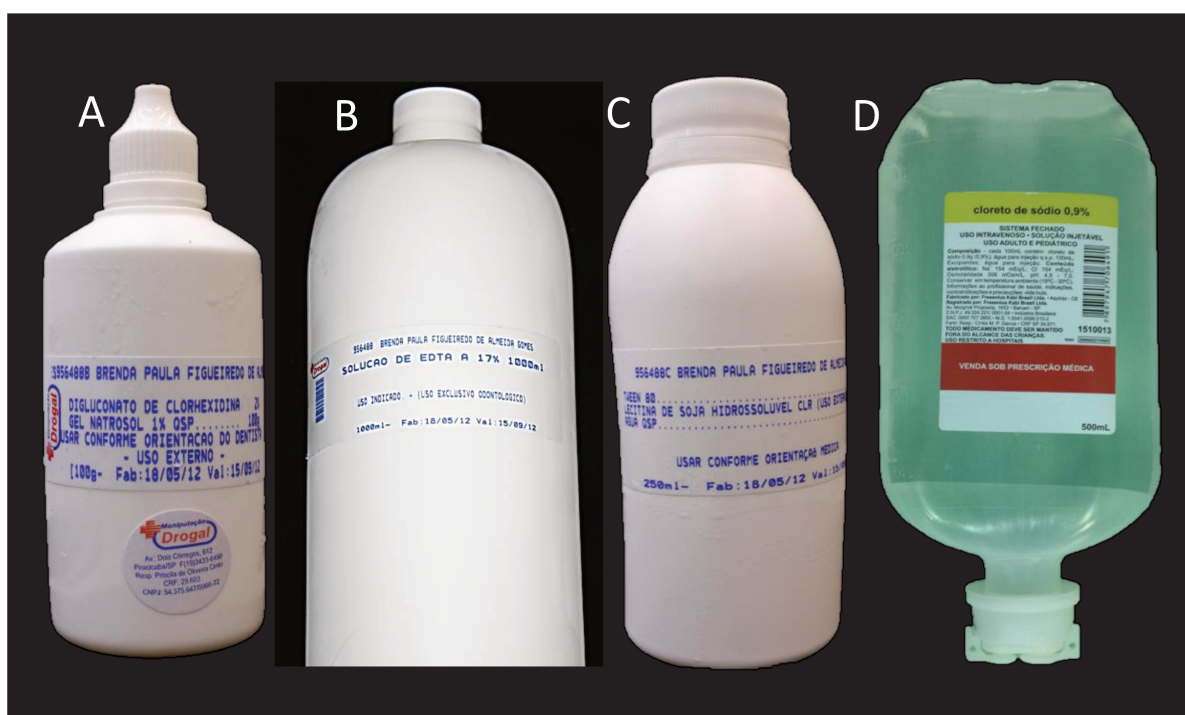
### 4.3 IRRIGAÇÃO DOS CANAIS RADICULARES:

Nos grupos G1, G2, G3, G4 e G5 foi utilizado o hipoclorito de sódio 1% (Proderma Farmácia de Manipulação, Piracicaba, SP) + Seringa descartável de 5 ml para irrigação (Med Goldman, Manaus, AM) + agulhas para irrigação (BD 0,55x20- 24G, Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas S.A, Juiz de Fora, MG.) (**Figura 10-A e B**) na quantidade de 2ml para cada instrumento utilizado. Ao final da instrumentação foi utilizado 3ml de EDTA 17% (**Figura 10-C**) por 3 minutos, com trocas de aproximadamente 1ml a cada minuto para remoção do smear layer e nova irrigação com hipoclorito de sódio 1% dessa vez com 5ml e após, irrigação com 5ml de Tiossulfato de sódio 0,6% (Proderma Farmácia de Manipulação, Piracicaba, SP) (**Figura 10-B**) para neutralizar o hipoclorito de sódio e depois foi utilizado 5ml de soro fisiológico como irrigação final (**Figura 10-D**).



**Figura 10.** Substâncias utilizadas nos grupos G1 a G5: **A** – Hipoclorito de sódio 1% + Tiossulfato de sódio 0,6% (neutralizador), **B**- Agulha BD 24G, **C**- EDTA 17%, **D**- Soro fisiológico.

Nos grupos G6, G7, G8, G9 e G10 a clorexidina gel 2% (Drogal Farmácia de Manipulação, Piracicaba, SP) (**Figura 11-A**) foi utilizada na quantidade total de 2 ml sendo introduzida no canal radicular a cada instrumento combinada com o soro fisiológico no volume de 2ml para remover os excessos do gel. Após, foi utilizado 3ml de EDTA 17% (**Figura 11-B**) por 3 minutos, com trocas de aproximadamente 1ml a cada minuto para remoção do *smear layer* e nova irrigação com 5ml de soro fisiológico. Depois, Tween 80 a 0,5% (Sigma Chemical Com, Saint Louis, MO, USA) + Lecitina de soja a 0,07% (Drogal Farmácia de Manipulação, Piracicaba, SP) (**Figura 11-C**) foi utilizado no volume de 5ml para neutralizar a clorexidina gel 2% e no fim foi realizada nova irrigação com 5ml de soro fisiológico (**Figura 11-D**).

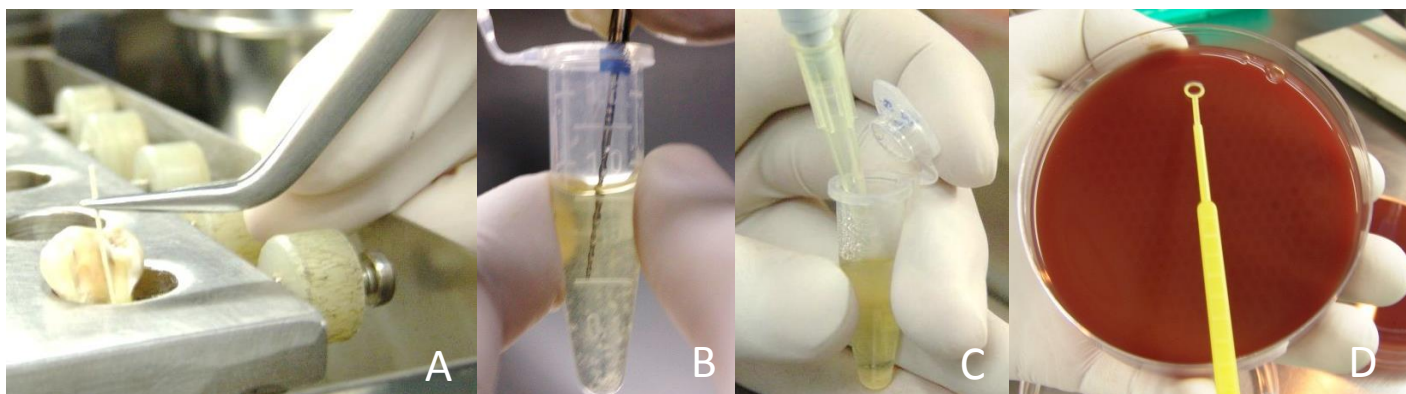


**Figura 11.** Substâncias utilizadas nos grupos G6 a G10: **A** – Clorexidina gel 2%, **B**- EDTA 17%, **C**- Tween 80 0,5% + Lecitina de soja a 0,07%, **D**- Soro fisiológico.

Nos grupos G11, G12, G13, G14 e G15 o soro fisiológico estéril foi utilizado como solução irrigadora no volume de 2ml a cada troca de instrumento e 5ml como irrigação final.

#### 4.4 COLETA DA LUZ DO CANAL E COLETA COMPLEMENTAR

Após a última irrigação com soro fisiológico em todos os grupos, foram introduzidos no canal disto-vestibular cones de papel absorvente estéreis (**Figura 12-A**) e depositados em tubos tipo eppendorfs individuais (coleta 2). Após esse procedimento foi utilizado uma lima F3 do sistema ProTaper nos grupos G1, G4, G6, G9, G11 e G14, lima #40 tipo K nos grupos G2, G7 E G12 (Grupos do Sistema EndoEze) , lima Mtwo 30/ .05 nos grupos G3, G8, G13 e nos grupos G5, G10 e G15 (grupos das Limas Manuais) , lima #40 tipo K, para coleta de raspas de dentina (coleta 3) (**Figura 12-B**), realizada com o intuito de complementar a coleta anterior e verificar se haveria diferença na redução de *Enterococcus faecalis* utilizando um instrumento mais calibroso entre uma coleta e outra. Essas coletas foram realizadas com as limas inseridas no comprimento de trabalho ou o mais próximo possível deste e rotacionadas num ângulo de 360° por 3 vezes. As raspas de dentina foram colocadas em eppendorfs contendo 1ml de BHI estéril (**Figura 12-C**) e cada tubo foi agitado por 1 minuto em vortex (Marconi Equipamentos para Laboratórios Ltda, Piracicaba, SP) e após isso, 100µL desta suspensão foram plaqueados em triplicatas em BHIA sangue e as placas incubadas em estufa de CO<sub>2</sub> a 37° C por 48 horas (**Figura 12-D**). Após o período de incubação, as colônias formadoras de microrganismos foram contadas determinando-se as unidades formadoras de colônias (UFC).



**Figura 12.** Coleta na luz do canal / dentina: **A** – Coleta na luz do canal, **B**- Raspas de dentina em BHI, **C**- Alíquota de 100µL, **D** – Plaqueamento em BHIA sangue.



#### **4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados do número de unidades formadoras de colônia foram dispostos em uma planilha de cálculo (Microsoft Office Excell 2010, Microsoft Corporation, Redmont, WA, EUA) e processados. Amostras com mais de 1 unidade formadora de colônia foram consideradas positivas para contaminação microbiana. Previamente à análise estatística foram feitos teste de normalidade para verificação da aplicação de testes paramétricos, no entanto, para todas as avaliações, os valores do teste de Shapiro Wilk apontaram  $p < 0,0001$ , inviabilizando a análise por meio destes testes. Diante disso, foram realizados os testes Kruskal Wallis/Dunn para as comparações intergrupo e o teste de Friedman ou Wilcoxon para comparações intragrupo. As análises foram realizadas no programa Bioestat 5.0 (Instituto Mamirauá, Belém, PA) e foi considerado nível de significância de 0,05.



## 5. RESULTADOS

Foram avaliadas 450 amostras coletadas da luz do canal, sendo 150 amostras coletadas antes do preparo (inicial-C1), após o preparo químico mecânico (luz-C2) e 150 amostras consideradas como uma coleta complementar (C3). Foram analisados 5 técnicas de instrumentação e 3 substâncias químicas auxiliares. Para a realização da análise estatística considerou-se as diluições de 1/100, tomando por base o número de unidades formadoras de colônia/ml (UFCs/ml) obtidas em cada amostra. Os fatores sistema de instrumentação e irrigantes foram considerados como variáveis independentes, sendo o número de UFCs/ml considerado como variável dependente.

### 5.1 AVALIAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES NA REDUÇÃO DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* NA LUZ DO CANAL RADICULAR E NA COLETA COMPLEMENTAR

Avaliando-se o hipoclorito de sódio 1%, em todas as coletas não existe diferença entre as técnicas utilizadas.

Quanto ao soro fisiológico, somente na coleta inicial (C1) observamos diferença entre as técnicas ProTaper+Gates e ProTaper. As demais técnicas não diferem entre si e nem entre as acima citadas. Nas coletas luz (C2) e complementar (C3) não existe diferença entre as técnicas, no entanto, na comparação da coleta inicial da técnica ProTaper, os valores de C1 diferem de C2, mas não diferem de C3.

Em relação à clorexidina gel 2%, na coleta inicial a técnica ProTaper + Gates difere da técnica do sistema EndoEze, já as demais técnicas não diferem entre si e nem entre os grupos acima citados. Nas coletas luz e complementar também não existem diferenças entre as técnicas.

Para todas as soluções a contagem de UFCs/ml é menor logo na C2 e permanece baixo na C3, independente da técnica utilizada, excetuando-se no grupo do soro fisiológico associado a técnica ProTaper, cujos valores de C1 não diferem de C3. Estes resultados podem ser observados na Tabela 2.

**Tabela 2** – Apresentação das medianas (valor mínimo e valor máximo) do número de unidades formadoras de colônias comparando as técnicas dentro de cada tipo de substância utilizada (n=450 – 10 por grupo).

| Substância           | Técnicas       | Coletas                            |                               |                               |
|----------------------|----------------|------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                      |                | Inicial (C1)                       | Luz (C2)                      | Complementar (C3)             |
| Hipoclorito de sódio | ProTaper+Gates | 130000(8000 - 480000) <b>Aa</b>    | 0 (0 - 8000) <b>Ab</b>        | 0 (0 - 4000) <b>Ab</b>        |
|                      | EndoEze        | 63000 (14000 - 220000) <b>Aa</b>   | 0 (0 - 2000) <b>Ab</b>        | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           |
|                      | Mtwo           | 45000 (16000 - 380000) <b>Aa</b>   | 0 (0 - 16000) <b>Ab</b>       | 0 (0 - 24000) <b>Ab</b>       |
|                      | Protaper       | 200000 (26000 - 420000) <b>Aa</b>  | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           |
|                      | Limas Manuais  | 68000 (28000 - 194000) <b>Aa</b>   | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           |
| Soro                 | ProTaper+Gates | 260000 (130000 - 520000) <b>Aa</b> | 0 (0 - 28000) <b>Ab</b>       | 2000 (0 - 18000) <b>Ab</b>    |
|                      | EndoEze        | 56000 (26000 - 420000) <b>ABa</b>  | 5000 (0 - 122000) <b>Ab</b>   | 0 (0 - 68000) <b>Ab</b>       |
|                      | Mtwo           | 150000 (8000 - 380000) <b>ABa</b>  | 4000 (0 - 56000) <b>Ab</b>    | 8000 (0 - 60000) <b>Ab</b>    |
|                      | Protaper       | 48000 (12 000 - 220000) <b>Ba</b>  | 1000 (0 - 64000) <b>Ab</b>    | 13000 (0 - 86000) <b>Aab</b>  |
|                      | Limas Manuais  | 142000 (30000 - 280000) <b>ABa</b> | 5000 (2000 - 12000) <b>Ab</b> | 8000 (2000 - 90000) <b>Ab</b> |
| Clorexidina          | ProTaper+Gates | 28000 (12000 - 144000) <b>Ba</b>   | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           | 0 (0 - 4) <b>Ab</b>           |
|                      | EndoEze        | 132000 (24000 - 394000) <b>Aa</b>  | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           |
|                      | Mtwo           | 80000 (12000 - 320000) <b>ABa</b>  | 0 (0 - 2000) <b>Ab</b>        | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           |
|                      | Protaper       | 104000 (56000 - 184000) <b>ABa</b> | 0 (0 - 32000) <b>Ab</b>       | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           |
|                      | Limas Manuais  | 42000 (16000 - 218000) <b>ABa</b>  | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           |

Dentro de cada substância, letras maiúsculas distintas na coluna significam diferença estatística pelo teste Kruskal Wallis/Dunn ( $p<0,05$ ) e letras minúsculas distintas na linha significam diferença estatística pelo teste de Friedman ( $p<0,05$ ).

Em todos os grupos houve redução significativa da contagem de *Enterococcus faecalis* após o preparo químico mecânico. Independente do tempo e da substância não houve diferença entre as técnicas. Apenas no grupo que utilizou o soro fisiológico associado ao sistema EndoEze houve diferença na percentagem de redução da contagem de UFC entre as coletas C2 e C3, onde houve maior redução na última coleta, como pode ser visto na Tabela 3.

**Tabela 3** – Porcentagem de redução da contagem de UFC comparando as técnicas dentro de cada tipo de substância utilizada.

| Substância                  | Técnicas       | Coletas          |                  |
|-----------------------------|----------------|------------------|------------------|
|                             |                | Luz (C2)         | Complementar(C3) |
| <b>Hipoclorito de sódio</b> | ProTaper+Gates | 100% <b>Aa</b>   | 100% <b>Aa</b>   |
|                             | EndoEze        | 100% <b>Aa</b>   | 100% <b>Aa</b>   |
|                             | Mtwo           | 100% <b>Aa</b>   | 100% <b>Aa</b>   |
|                             | ProTaper       | 100% <b>Aa</b>   | 100% <b>Aa</b>   |
|                             | Limas Manuais  | 100% <b>Aa</b>   | 100% <b>Aa</b>   |
| <b>Soro</b>                 | ProTaper+Gates | 100% <b>Aa</b>   | 98,93% <b>Aa</b> |
|                             | EndoEze        | 94,72% <b>Ab</b> | 100% <b>Aa</b>   |
|                             | Mtwo           | 98,29% <b>Aa</b> | 94,73% <b>Aa</b> |
|                             | ProTaper       | 96,42% <b>Aa</b> | 84,37% <b>Aa</b> |
|                             | Limas Manuais  | 95,95% <b>Aa</b> | 93,54% <b>Aa</b> |
| <b>Clorexidina</b>          | ProTaper+Gates | 100% <b>Aa</b>   | 100% <b>Aa</b>   |
|                             | EndoEze        | 100% <b>Aa</b>   | 100% <b>Aa</b>   |
|                             | Mtwo           | 100% <b>Aa</b>   | 100% <b>Aa</b>   |
|                             | ProTaper       | 100% <b>Aa</b>   | 100% <b>Aa</b>   |
|                             | Limas Manuais  | 100% <b>Aa</b>   | 100% <b>Aa</b>   |

Dentro de cada substância, letras maiúsculas distintas na coluna significam diferença estatística pelo teste Kruskal Wallis/Dunn ( $p < 0,05$ ) e letras minúsculas distintas na linha significam diferença estatística pelo teste de Wilcoxon ( $p < 0,05$ ).

## **5.2 AVALIAÇÃO DOS SISTEMAS TESTADOS NA REDUÇÃO DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* NA LUZ DO CANAL RADICULAR E NA COLETA COMPLEMENTAR**

Analizando o sistema ProTaper+Gates na coleta inicial, na comparação entre soluções, observa-se diferença entre o soro e a clorexidina. Já o hipoclorito de sódio 1% não difere de nenhum dos outros dois.

Avaliando o sistema ProTaper na coleta inicial, o hipoclorito de sódio 1% diferiu do soro, apresentando maiores contagens de UFCs/ml. Já a clorexidina gel 2% não difere nem do hipoclorito de sódio 1% e nem do soro. Já na coleta complementar a contagem de UFCs/ml quando associada ao soro foi maior do que nos outros grupos.

O sistema EndoEze nas coletas C2 e C3, quando associado ao soro obteve maiores valores de UFCs/ml do que quando associado ao hipoclorito de sódio e a clorexidina.

O sistema Mtwo em C2 apresenta maiores valores de UFCs/ml quando associado ao soro do que a clorexidina. Já o hipoclorito de sódio não diferiu de nenhum dos outros dois. Em C3 o soro obteve valores maiores do que a clorexidina, mas igualou-se ao hipoclorito de sódio.

Utilizando as limas manuais observou-se que, nas coletas C2 e C3, os valores de UFCs/ml quando associado ao soro foram maiores que o hipoclorito de sódio e clorexidina. Estes dados podem ser vistos na Tabela 4.

**Tabela 4** – Apresentação das medianas (valor mínimo e valor máximo) do número de unidades formadoras de colônias comparando as substâncias dentro de cada técnica utilizada (n=450 – 10 por grupo).

| Técnicas       | Substância           | Coletas                            |                               |                               |
|----------------|----------------------|------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                |                      | Inicial (C1)                       | Luz (C2)                      | Complementar (C3)             |
| ProTaper+Gates | Hipoclorito de sódio | 130000(8000 - 480000) <b>ABa</b>   | 0 (0 - 8000) <b>Ab</b>        | 0 (0 - 4000) <b>Ab</b>        |
|                | Soro                 | 260000 (130000 - 520000) <b>Aa</b> | 0 (0 - 28000) <b>Ab</b>       | 2000 (0 - 18000) <b>Ab</b>    |
|                | Clorexidina          | 28000 (12000 - 144000) <b>Ba</b>   | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           | 0 (0 - 4) <b>Ab</b>           |
| EndoEze        | Hipoclorito de sódio | 63000 (14000 - 220000) <b>Aa</b>   | 0 (0 - 2000) <b>Bb</b>        | 0 (0 - 0) <b>Bb</b>           |
|                | Soro                 | 56000 (26000 - 420000) <b>Aa</b>   | 5000 (0 - 122000) <b>Ab</b>   | 0 (0 - 68000) <b>Ab</b>       |
|                | Clorexidina          | 132000 (24000 - 394000) <b>Aa</b>  | 0 (0 - 0) <b>Bb</b>           | 0 (0 - 0) <b>Bb</b>           |
| Mtwo           | Hipoclorito de sódio | 45000 (16000 - 380000) <b>Aa</b>   | 0 (0 - 16000) <b>ABb</b>      | 0 (0 - 24000) <b>Ab</b>       |
|                | Soro                 | 150000 (8000 - 380000) <b>Aa</b>   | 4000 (0 - 56000) <b>Ab</b>    | 8000 (0 - 60000) <b>Ab</b>    |
|                | Clorexidina          | 80000 (12000 - 320000) <b>Aa</b>   | 0 (0 -2000) <b>Bb</b>         | 0 (0 -0) <b>Bb</b>            |
| ProTaper       | Hipoclorito de sódio | 200000 (26000 - 420000) <b>Aa</b>  | 0 (0 - 0) <b>Ab</b>           | 0 (0 - 0) <b>Bb</b>           |
|                | Soro                 | 48000 (12 000 - 220000) <b>Ba</b>  | 1000 (0 - 64000) <b>Ab</b>    | 13000 (0 - 86000) <b>Aab</b>  |
|                | Clorexidina          | 104000 (56000 - 184000) <b>ABa</b> | 0 (0 -32000) <b>Ab</b>        | 0 (0 -0) <b>Bb</b>            |
| Limas Manuais  | Hipoclorito de sódio | 68000 (28000 - 194000) <b>Aa</b>   | 0 (0 - 0) <b>Bb</b>           | 0 (0 - 0) <b>Bb</b>           |
|                | Soro                 | 142000 (30000 - 280000) <b>Aa</b>  | 5000 (2000 - 12000) <b>Ab</b> | 8000 (2000 - 90000) <b>Ab</b> |
|                | Clorexidina          | 42000 (16000 - 218000) <b>Aa</b>   | 0 (0 - 0) <b>Bb</b>           | 0 (0 - 0) <b>Bb</b>           |

Dentro de cada técnica, letras maiúsculas distintas na coluna significam diferença estatística pelo teste Kruskal Wallis/Dunn ( $p<0,05$ ) e letras minúsculas distintas na linha significam diferença estatística pelo teste de Friedman ( $p<0,05$ )

Analisando a porcentagem de redução da contagem de UFC, não houve diferença estatística entre as substâncias nos sistemas ProTaper+Gates, Mtwo e Protaper em C2. Já nos sistemas EndoEze e Limas manuais o soro apresentou menor porcentagem de redução que hipoclorito de sódio 1% e clorexidina gel 2%, que por sua vez, não diferiram entre si.

Na coleta complementar os sistemas ProTaper+Gates e Endo Eze não apresentaram diferença entre as substâncias. Entretanto, os sistemas Mtwo, ProTaper e Limas Manuais o soro apresentou menor porcentagem de redução que hipoclorito de sódio e clorexidina, que por sua vez, não diferiram entre si.

Não há diferença entre as coletas em nenhum dos sistemas avaliados, exceto no sistema EndoEze associado ao soro onde em C2 a porcentagem de redução foi menor (Tabela 5).

**Tabela 5** – Porcentagem de redução da contagem de UFC comparando as substâncias dentro de cada técnica avaliada.

| Técnicas       | Substância           | Coletas   |                  |
|----------------|----------------------|-----------|------------------|
|                |                      | Luz (C2)  | Complementar(C3) |
| ProTaper+Gates | Hipoclorito de sódio | 100% Aa   | 100% Aa          |
|                | Soro                 | 100% Aa   | 98,93% Aa        |
|                | Clorexidina          | 100% Aa   | 100% Aa          |
| EndoEze        | Hipoclorito de sódio | 100% Aa   | 100% Aa          |
|                | Soro                 | 94,72% Bb | 100% Aa          |
|                | Clorexidina          | 100% Aa   | 100% Aa          |
| Mtwo           | Hipoclorito de sódio | 100% Aa   | 100% Aa          |
|                | Soro                 | 98,29% Aa | 94,73% Ba        |
|                | Clorexidina          | 100% Aa   | 100% Aa          |
| ProTaper       | Hipoclorito de sódio | 100% Aa   | 100% Aa          |
|                | Soro                 | 96,42% Aa | 84,37% Ba        |
|                | Clorexidina          | 100% Aa   | 100% Aa          |
| Limas Manuais  | Hipoclorito de sódio | 100% Aa   | 100% Aa          |
|                | Soro                 | 95,95% Ba | 93,54% Ba        |
|                | Clorexidina          | 100% Aa   | 100% Aa          |

Dentro de cada técnica, letras maiúsculas distintas na coluna significam diferença estatística pelo teste Kruskal Wallis/Dunn ( $p < 0,05$ ) e letras minúsculas distintas na linha significam diferença estatística pelo teste de Wilcoxon ( $p < 0,05$ ).

## 6. DISCUSSÃO

No presente estudo foram selecionadas raízes disto-vestibulares de molares superiores, por fazerem parte de um grupo onde se verifica alta prevalência na realização de tratamento endodôntico, além das condições anatômicas favorecerem a padronização das amostras por se tratar de uma raiz que apresenta-se com um único canal (Lima, 2005; Cleghorn *et al.*, 2006), circular na maioria dos casos (Machado *et al.*, 2010).

Durante o preparo das amostras pudemos observar as dificuldades inerentes às etapas iniciais do tratamento endodôntico, como por exemplo, cirurgia de acesso, localização do conduto e inclinação dada aos instrumentos para o acesso ao canal disto-vestibular, visto que não foi realizada a separação desta raiz para o estudo, conforme trabalhos realizados por Dalton *et al.* (1998) e Rollison *et al.* (2002). Além disto, a permanência da coroa permitiu que a câmara pulpar atuasse como um reservatório para as substâncias testadas, aumentando seu tempo de contato com as paredes dentinárias (Machado *et al.*, 2010). No entanto, a instrumentação e as coletas foram realizadas somente no canal disto-vestibular.

As infecções endodônticas são de natureza polimicrobiana, onde as bactérias anaeróbias estritas gram negativas estão presentes em maior numero (Baumgartner & Falkler, 1991; Sundqvist, 1992a; Vianna *et al.*, 2006). Por outro lado a microbiota de canais com insucesso é caracterizada por bactérias gram positivas e anaeróbias facultativas, dentre elas, o *Enterococcus faecalis* (Molander *et al.*, 1998; Sundqvist *et al.*, 1998; Hancock *et al.*, 2001; Pinheiro *et al.*, 2003; Gomes *et al.*, 2004).

*Enterococcus faecalis* é um microrganismo relativamente fácil de ser cultivado e de alta relevância clínica. É uma espécie bacteriana capaz de se estabelecer e sobreviver na ausência de outras bactérias, em casos de dentes com necessidade de retratamento, na presença de lesões periapicais (Peciulienė *et al.*, 2000; Pinheiro *et al.*, 2003). Além disto, a literatura mostra que é um

microrganismo altamente resistente ao preparo químico-mecânico (Siqueira *et al.*, 1999; Shuping *et al.*, 2000; Rollison *et al.*, 2002; Colak *et al.*, 2005). Também possui a capacidade de penetrar no interior da dentina e aderir ao colágeno, mantendo-se viável mesmo em níveis elevados de pH (McHugh *et al.*, 2004; Kayaoglu *et al.*, 2005; Gurgel-Filho *et al.*, 2007; Siqueira *et al.*, 2008).

Em nosso estudo, o tempo de contaminação das amostras foi de 21 dias, de acordo com Haapasalo & Ørstavik (1987), Lenet *et al.* (2000), Berber (2005) e Matos Neto *et al.* (2012), estando os dentes imersos em recipientes com meio adequado. Trocas desse meio foram realizadas a cada dois dias para que o microrganismo penetrasse até os túbulos dentinários. Tempos e formas diferentes de contaminação também são relatados na literatura, conforme Siqueira *et al.* (1999) e Colak *et al.* (2005) que inseriram o caldo de BHI com *Enterococcus faecalis* nas amostras com uma pipeta estéril e lima tipo K #15 até o comprimento de trabalho dos dentes e os deixou contaminando por 24 horas; Machado *et al.* (2010) que contaminaram as amostras por 72 horas e Ferraz *et al.* (2001), Santana (2008) e Brito (2009) que contaminaram as amostras pelo período de 7 dias. As coletas C1 e C2 foram realizadas com cones de papel estéreis, em concordância com vários autores (Siqueira *et al.*, 1999; Perin *et al.*, 2004; Berber, 2005; Alencar *et al.*, 2005; Câmara *et al.*, 2009; Machado *et al.*, 2010; Vijaykumar *et al.*, 2010), no entanto, o uso de cones de papel apresenta a desvantagem de somente verificar a redução bacteriana na luz do canal. Por isto, após a coleta do preparo químico mecânico, um instrumento mais calibroso foi inserido nos canais e raspas de dentina foram coletadas, assim como fizeram Berber (2005) e Nakamura (2010) objetivando com isto verificar se essa coleta complementar indicaria uma maior redução bacteriana na luz do canal do que a já encontrada após a instrumentação. Dessa forma, a raiz não foi clivada e nem utilizadas brocas em alta rotação para coleta das raspas de dentina, preservando a raiz estudada.

Este trabalho buscou comparar sistemas e instrumentos com características diversas, tais como cinemática, tipo de liga, características geométricas. O

número de instrumentos utilizados também variaram, de acordo com o sistema empregado, havendo inclusive associação das brocas Gates ao sistema ProTaper (Machado, 2007). No sistema Mtwo foram empregados quatro instrumentos, seis no sistema ProTaper, oito no sistema Endo Eze, dez no grupo de limas manuais e onze no grupo Protaper + Gates. A cinemática dos instrumentos foi de rotação contínua nos sistemas Mtwo, ProTaper, ProTaper + Gates, oscilatória no sistema Endo Eze, e movimentos de cateterismo no grupo que utilizou as limas manuais. Contudo, nossos resultados mostraram que, independente do sistema, cinemática ou instrumento utilizado, não houve diferença estatística entre as técnicas de instrumentação dentro de cada tipo de irrigação, tanto na luz do canal, quanto na coleta complementar. Resultados semelhantes foram encontrados por Coldero *et al.*, 2002; Siqueira *et al.*, 2002; Colak *et al.*, 2005; Chuste-Guillot *et al.*, 2006 e Machado *et al.*, 2010. Já Gorduysus *et al.* (2010), divergiram parcialmente de nossos achados, pois seu trabalho utilizando os sistemas ProTaper, K3, Hero e Limas K associadas às brocas Gates, também demonstrou redução bacteriana em todos os grupos, no entanto, o grupo em que o sistema ProTaper foi utilizado obteve melhor desempenho. A solução irrigadora utilizada em todos os grupos foi o soro fisiológico para que os resultados não sofressem a influência de uma substância antimicrobiana.

O volume da substância química auxiliar independente da qual tenha sido testada também diferiu, acompanhando a variação do número de instrumentos dentro de cada grupo. Ainda assim esse dado não influenciou nos resultados obtidos nos tempos luz do canal e coleta complementar.

O sistema Mtwo apresenta excelente capacidade de corte, possui secção transversal em forma de S itálico, ângulo de ataque positivo e 2 canais helicoidais bastante sinuosos, o que favorece a remoção de debris e a capacidade de limpeza e consequentemente, a redução bacteriana ( Siqueira *et al.*, 1997; Schäfer *et al.*, 2006; Machado *et al.*, 2010; Burklein *et al.*, 2012; Krajczár *et al.*, 2012).

Já o sistema ProTaper apresenta variações em sua conicidade ao longo de sua parte ativa, portanto o instrumento possui ação seletiva ao cortar a dentina radicular, já que a área mais cônica da lima é que estará alargando e modelando o canal radicular nos segmentos preestabelecidos (Clauder & Baumann, 2004). Possui secção reta transversal cordiforme, não apresenta plano radial, o que aumenta sua capacidade de corte, além de reduzir o avanço do instrumento diminuindo o efeito parafuso (Sydney, 2002; Blum *et al.*, 2003).

O Sistema Endo EZE utiliza o conceito de “instrumentação AET” ou “*Anatomic Endodontic Technology*” (Princípio da Endodontia Anatômica). Este princípio consiste no preparo circunferencial e seletivo do canal radicular e surge como alternativa de técnica para o preparo dos terços cervical e médio. Sua aplicação tem como base os trabalhos de Wu *et al.* (2000) e Belucci & Perrini (2002), que demonstraram uma grande disparidade entre os diâmetros vestibulo-lingual e méso- distal dos canais, concluindo que a maioria apresenta formato oval e muitas vezes difíceis de serem instrumentados tridimensionalmente pelas técnicas convencionais. Pelo fato do sistema ser de aço inoxidável e trabalhar oscilando dentro do canal radicular, o fabricante sugere que a cinemática seja de pincelamento, de forma vigorosa, passando por todas as paredes dos canais radiculares, inclusive em áreas de istmos e bifurcações (Riitano, 2005). Na literatura, até o momento, não há trabalhos avaliando a redução bacteriana utilizando o Sistema EndoEze. Por ter sido idealizado para atuar nos dois terços iniciais do canal radicular, no terço apical comumente são utilizadas limas manuais, hibridizando o sistema.

Várias pesquisas avaliaram a eficácia das limas manuais na desinfecção do sistema de canais, inclusive comparando com sistemas rotatórios, demonstrando não haver diferença estatística entre os grupos (Dalton *et al.*, 1998; Pataky *et al.*, 2002; Colak *et al.*, 2005; Chuste-Guillot *et al.*, 2006; Nakamura, 2010; Matos Neto *et al.*, 2012), concordando com nossos resultados. No entanto, os autores também

afirmaram que nenhum sistema avaliado foi capaz de reduzir completamente a população microbiana.

Considerando que os sistemas ProTaper e EndoEze promovem grande remoção de dentina, especialmente o EndoEze, por ser de aço inoxidável, e se propõem inclusive a trabalhar com movimentos de “pincelamento” nas paredes do canal especialmente nos terços cervical e médio, sua utilização deveria apresentar resultados superiores quando comparados com sistemas que utilizam rotação contínua, como no caso do Mtwo, ou mesmo a instrumentação manual. No entanto, a literatura mostra que, mesmo realizando este tipo de cinemática, os instrumentos não conseguem tocar em todas as paredes, independente da metodologia utilizada, podendo favorecer a sobrevivência de microrganismos nessas áreas (Rödig *et al.*, 2002; Weiger *et al.*, 2002; ElAyouti *et al.*, 2008; Paqué *et al.*, 2010), o que foi confirmado pelos nossos resultados.

Obviamente, a associação dos instrumentos a substâncias irrigadoras com ação antimicrobiana contribui para o sucesso do tratamento endodôntico. Espera-se que as soluções químicas auxiliares tenham ação especialmente nas áreas não tocadas pelos instrumentos, tais como: istmos, ramificações e em porções achatadas dos canais radiculares, além de auxiliarem na remoção de debris formados durante a instrumentação.

Em nosso estudo as substâncias testadas foram o hipoclorito de sódio 1% nos grupos G1, G2, G3, G4 e G5; a clorexidina gel 2% nos grupos G6, G7, G8, G9 e G10 e o soro fisiológico nos grupos G11, G12, G13, G14 e G15.

O potencial antimicrobiano do hipoclorito de sódio é amplamente demonstrado na literatura (Siqueira *et al.*, 2000; Vianna *et al.*, 2004; Berber, 2005; Vianna *et al.*, 2006; Arruda *et al.*, 2009; Retamozo *et al.*, 2010), inclusive atuando no biofilme produzido pelo *Enterococcus faecalis*, microrganismo utilizado em nosso trabalho (Sena, 2005; Arias-Moliz *et al.*, 2009; Ozdemir *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2010; Martinho *et al.*, 2011). Não há um consenso sobre qual a melhor

concentração a ser utilizada, visto que, concentrações mais elevadas são mais efetivas na redução de bactérias, no entanto, também possuem maior potencial irritativo para os tecidos periapicais (Ferraz *et al.*, 2001; Hülsmann & Hahn, 2000; Tanomaru Filho *et al.*, 2002). Vários trabalhos relatam que, concentrações mais baixas também possuem boa ação antimicrobiana, inclusive, alguns autores relatam não haver diferença quando comparadas às concentrações mais elevadas (Björström & Sundqvist, 1985; Siqueira *et al.*, 2002; Zehnder, 2006; Haapasalo *et al.*, 2010), por isto nós optamos pelo hipoclorito de sódio 1%.

Todavia, um fator que parece influenciar é o volume de solução utilizado para irrigação (Siqueira *et al.*, 2000; Berber, 2005). Em nosso estudo, não foi padronizado o volume total das substâncias empregadas para melhor simular as condições clínicas. Nos grupos que utilizaram o hipoclorito de sódio os canais foram irrigados com 2ml a cada troca de instrumento seguido de 3ml de EDTA 17% , onde houve troca de aproximadamente 1ml a cada minuto por 3 minutos e após essa etapa utilizamos 5ml de NaOCl, que foi inativado por 5ml de tiosulfato de sódio 0,6% e finalizado com 5ml de soro fisiológico. Portanto, mesmo com uma concentração baixa de hipoclorito de sódio, certamente houve o efeito mecânico da irrigação, contribuindo para os resultados obtidos.

Nos grupos que utilizaram a clorexidina gel 2%, foi utilizado 2 ml por dente, alternando com 2ml de soro fisiológico entre cada troca de instrumento para que houvesse a constante renovação da substância química, além do posterior uso de Tween 80 a 0,5%+ Lecitina de soja a 0,07% no volume de 5ml e posteriormente mais 5ml de soro fisiológico como irrigação final.

Nos grupos onde o soro foi utilizado isoladamente o volume também variou de acordo com o sistema de instrumentação empregado. Apesar disso, obteve índices de redução de mais de 90% em quase todos os grupos, concordando com os resultados de Siqueira *et al.* (1999) e Berber (2005).

Certamente, a remoção física dos debris do interior do canal radicular, além do fluxo e refluxo da solução, contribuem sobremaneira para a redução do

número de UFC, como pode ser observado no trabalho de Vijaykumar *et al.* (2010) que avaliou a redução de *E. faecalis* variando somente as substâncias irrigadoras, sem instrumentação e obteve 66% de redução de *Enterococcus faecalis* no grupo em que o soro fisiológico foi utilizado.

A associação do NaOCl ao EDTA 17% tem se mostrado benéfica (McGurkin-Smith *et al.*, 2005; Young *et al.*, 2007; Ozdemir *et al.*, 2010 ), visto que o NaOCl isolado não é capaz de remover matéria inorgânica, papel que o EDTA desempenha com êxito, aumentando assim a capacidade de limpeza do canal radicular, principalmente no que tange à remoção de debris e smear layer . Brito *et al.*, (2009) comparando três diferentes técnicas de irrigação (agulhas NaviTips, sistema EndoActivator, sistema EndoVac) , todos associados a NaOCl + EDTA mostraram não haver diferenças entre as técnicas testadas.

A clorexidina utilizada em nossa pesquisa foi associada ao gel de natrosol 1%, que é um agente espessante, não iônico, inerte, hidrossolúvel e muito utilizado como espessante de xampus, géis e sabonetes à base de tensoativos aniônicos, como por exemplo, o digluconato de clorexidina (Ferraz, 1999). Até então essa associação em gel só era observada no emprego da clorexidina gel como medicação intracanal (Siqueira & de Uzeda, 1997).

Ao compararmos a clorexidina gel 2% ao hipoclorito de sódio 1% em nossa pesquisa, os resultados mostraram que tanto na coleta 2 quanto na coleta 3, as soluções tiveram comportamento semelhante e foram efetivas na redução do *Enterococcus faecalis*. No entanto nos grupos irrigados somente com soro fisiológico também houve redução bacteriana significativa, como já havia sido demonstrado por Byström & Sundqvist (1981). Nesse caso, além das propriedades mecânicas da irrigação, certamente os sistemas de instrumentação utilizados foram relevantes, o que concorda com o trabalho de Siqueira *et al.*, (2000) e o de Colak *et al.*, (2005).

O tempo de contato das soluções com os substratos testados também é um fator importante apesar de não ter sido objeto de estudo dessa pesquisa,

considerando que empregamos sistemas com diferentes quantidades de instrumentos e cinemáticas. Normalmente na instrumentação rotatória o tempo empregado no preparo químico mecânico costuma ser menor que nas técnicas manuais (Guelzow *et al.*, 2005; Schirrmeister *et al.*, 2006; Vaudt *et al.*, 2009).

Gomes *et al.* (2001) comparando *in vitro* eficácia do hipoclorito de sódio nas concentrações que variavam de 0,5% a 5,25% e da clorexidina líquida e em gel nas concentrações de 0,2%, 1% e 2% na eliminação de *E.faecalis* perceberam que a efetividade das substâncias testadas foi tempo-dependente, sendo a clorexidina gel 2% efetiva no tempo de 1 minuto e o hipoclorito de sódio 1% em 20 minutos. Wang *et al.* (2007) utilizando a clorexidina gel 2% associada a instrumentação rotatória no tempo total de 45 minutos em pacientes com periodontite apical se mostrou efetiva na redução bacteriana imediata.

Percebe-se uma tendência em reduzir o número de instrumentos utilizados para o preparo mecânico, especialmente devido as vantagens apresentadas pelos sistemas rotatórios em NiTi, como por exemplo, flexibilidade (Walia, 1988), centralização dos preparos, capacidade de corte, diferentes conicidades, entre outros (Dobó-Nagy *et al.*, 2002; Aydin, 2007; Lopes e Siqueira, 2010).

Recentemente, novos instrumentos confeccionados com uma liga de NiTi melhorada (M-Wire) foram lançados com a proposta de serem de uso único no canal radicular, simplificando a sequência de tratamento (De-Deus *et al.*, 2010; Burklein *et al.*, 2012). Comparados com os sistemas rotatórios, que empregam múltiplos instrumentos, os sistemas de instrumento único também se mostraram efetivos na redução bacteriana (Alves *et al.*, 2012). No entanto, até o presente, nenhum sistema é capaz de promover uma completa desinfecção dos canais radiculares. Tendo em vista a simplificação de técnicas e instrumentos, onde a lima e a substância química auxiliar permanecem menor tempo em contato com o canal radicular, é importante utilizar uma substância que apresente um amplo espectro antimicrobiano com efeito residual.

## 7. CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos e nas condições experimentais desse estudo pode-se concluir que:

- a) As técnicas de instrumentação testadas, empregando diferentes tipos de sistemas, são eficazes na redução de *Enterococcus faecalis* na luz do canal radicular independente da substância química auxiliar utilizada.
- b) Dentre as substâncias avaliadas o hipoclorito de sódio 1% e a clorexidina gel 2% foram igualmente efetivas na redução da população de *Enterococcus faecalis* enquanto que o soro obteve resultados inferiores.



## REFERÊNCIAS \*

1. Abou-Rass M, Piccinino MV. The effectiveness of four irrigation methods on the removal of root canal debris. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1982; 54(3): 323-328.
2. Ahlquist M, Henningsson O, Hultenby K, Ohlin J. The effectiveness of manual and rotary techniques in the cleaning of root canals: A scanning electron microscopy study. *Int Endod J.* 2001; 34(7): 533-537.
3. Alencar AH, Pimenta FC, Ito IY, Bruno KF, Leonardo MR. Determinação dos microrganismos no canal radicular, antes do preparo biomecânico e após a utilização da medicação intracanal em dentes com necrose pulpar e reação periapical crônica. *Arquivos em Odontologia.* 2005; 41(2): 105-192.
4. Alves FRF, Almeida BM, Neves MAS, Moreno JO, Rôças IN, Siqueira JF Jr. Disinfecting oval-shaped root canals: Effectiveness of different supplementary approaches. *J Endod.* 2011; 37(4):496-501.
5. Alves FRF, Rôças IN, Almeida BM, Neves MAS, Zoffoli J, Siqueira JF Jr. Quantitative molecular and culture analyses of bacterial elimination in oval-shaped root canals by a single-file instrumentation technique. *Int Endod J.* 2012; 45(9): 871–877.
6. Ando N, Hoshino E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentine. *Int Endod J.* 1990; 23(1):20-27.
7. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* Biofilms Eradication by Root Canal Irrigants. *J Endod.* 2009;35(5):711–714.

---

\* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

8. Arruda MP, Carvalho Jr. JR, Miranda CES, Paschoalato C, Silva SRC. Cleaning of Flattened Root Canals with Different Irrigating Solutions and Nickel-Titanium Rotary Instrumentation. *Braz Dent J.* 2009; 20(4): 284-289.
9. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobialmedicaments in endodontics. *Aust Dent Journal.* 2007; 52(1):64–82.
10. Aydin C, Tunca YM, Senses Z, Baysallar M, Kayaoglu G, Ørstavik D. Bacterial reduction by extensive versus conservative root canal instrumentation *in vitro*. *Acta Odontol Scand.* 2007;65(3):167-170.
11. Baldwin VE, Jarad FD, Balmer C, Mair LH. Inadvertent injection of sodium hypochlorite into the periradicular tissues during root canal treatment. *Dent Update.* 2009; 36(1):14-16.
12. Baratto Filho F, Zaitter S, Haragushiku GA, Campos EA, Abuabara A, Correr GM. Analysis of the internal anatomy of maxillary first molars by using different methods.*J Endod.* 2009; 35(3): 337-342.
13. Barbizam JVB, Fariniuk LF, Marchesan MA, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Effectiveness of manual and rotary instrumentation techniques for cleaning flattened root canals. *J Endod* 2002; 28(5): 365-366.
14. Baumgartner JC, Falkler Jr WA. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *J Endod.* 1991; 17(8): 380-383.
15. Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *J Endod.* 1992; 18(12): 605-612.
16. Becking AG. Complications in the use of sodium hypochlorite during endodontic treatment: Report of three cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1991; 71(3): 346-348.
17. Bellucci C, Perrini N. A study on the thickness of radicular dentine and cementum in anterior and premolar teeth. *Int Endod J* 2002; 35(7): 594-606.
18. Beltz R.E., Torabinejad M., Pouresmail M. Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite, and EDTA on bovine pulp and dentin. *J Endod.* 2003; 29(5):334-337.

19. Berber, V.B., Verificação da redução do *Enterococcus faecalis* no canal radicular e nos túbulos dentinários utilizando difentes substâncias químicas e técnicas de instrumentação. [dissertação]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2005.
20. Blum JY, Machtou P, Ruddle C, Micallef JP. Analysis of Mechanical Preparations in Extracted Teeth Using protaper Rotary Instruments: Value of the Safety Quotient. J Endod. 2003; 29 (9): 567-575.
21. Bondestam O, Gahnberg L, Sund ML, Linder L. Effect of chlorhexidine treatment on the prevalence of *mutans streptococci* and *lactobacilli* in patient with impaired salivary secretion rate. Spec Care Dentist. 1996; 16(3): 123-127.
22. Bramante CM, Berbert A, Borges RP. A methodology for evaluation of root canal instrumentation. J Endod. 1987; 13(5): 243-245.
23. Bramante CM, Berbert A, Moraes IG, Bernardineli N, Garcia RB. Anatomia das cavidades pulpares. Aspectos de interesse à Endodontia. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Pedro Primeiro, 2000.
24. Brito PRR, Souza LC, Oliveira JCM, Alves FRF, De-Deus G, Lopes HP, Siqueira JF Jr. Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an In vitro study. J Endod. 2009; 35(10): 1422–1427.
25. Bürklein S, Hinschitza K, Dammachke 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. Int Endod J. 2012; 45(5): 449–461.
26. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scand J Dent Res. 1981; 89(4): 321-328.

27. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1983; 55(3): 307-312.
28. Byström A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol.* 1985; 1(5):170-175.
29. Câmara ACC, Albuquerque MM, Aguiar CM, Correia ACRB. Antimicrobial activity of chlorhexidine in root canals instrumented with the ProTaper Universal System. *Braz J Oral Sci.* 2010; 9(3): 402-409.
30. Card SJ, Sigurdsson A, Ørstavik D, Trope M. The Effectiveness of Increased Apical Enlargement in Reducing Intracanal Bacteria. *J Endod .* 2002; 28(11): 779-783.
31. Chuste-Guillot MP, Badet C, Peli JF, Perez F. Effect of three nickel-titanium rotary file techniques on infected root dentin reduction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 102(2): 254-258.
32. Clauder T, Baumann MA. ProTaper NT system. *Dent Clin N Am.* 2004; 48(1): 87-111.
33. Cleghorn BM, Christie WH, Dong CSC. Root and root canal morphology of the human permanent maxillary first molar: a literature review. *J Endod.* 2006; 32(9): 813-821.
34. Cohen, S., Burns, R. C. *Caminhos da Polpa.* 6ªed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1994.
35. Colak M, Evcil S, Bayindir Z, Yigit N. The effectiveness of three instrumentation techniques on the elimination of *Enterococcus faecalis* from a root canal: an in vitro study. *Journal of Contemporary Dental Practice.* 2005; 6(1): 94-106.

36. Coldero LG, McHugh S, MacKenzie D, Saunders WP. Reduction in intracanal bacteria during root canal preparation with and without apical enlargement. *Int Endod J*. 2002; 35(5): 437-446.
37. Constante IGT, Davidowicz H, Barletta FB, Moura AAM. Study of the areas and thicknesses of mesiobuccal root canals prepared by three endodontic techniques. *Braz oral Res*. 2007; 21(2): 118-126.
38. Contreras MAL, Zinman EH, Kaplan SK. Comparison of the first file that fits at the apex, before and after early flaring. *J Endod*. 2001; 27(2):113-116.
39. Coutinho-Filho T, De Deus G, Pinto TG, Gurgel-Filho E, Maniglia-Ferreira C. A computer evaluation of the dentin remaining after cervical preparation in curved canals: gates-glidden drills vs. orifice shaper. 2002; *Braz J Oral Sci*. 1(3): 116-120.
40. Crincoli V, Scivetti M, Di Bisceglie MB, Pilolli GP, Favia G. Unusual case of adverse reaction in the use of sodium hypochlorite during endodontic treatment: a case report. *Quintessence Int*. 2008; 39(2):e70-73.
41. Dahlén G, Bergenholtz G. Endotoxic activity in teeth with necrotic pulps. *J Dent Res*. 1980; 59(6): 1033–1040.
42. Dahlén G, Samuelsson W, Moander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol*. 2000;15(5): 309-312.
43. Dalton BC, Ørstavik D, Philips C, Pettiette, Trope M. Bacterial reduction with Nickel-Titanium rotary instrumentation. *J Endod*. 1998; 24(11): 763-767.
44. Dametto FR, Ferraz CC, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005; 99(6): 768-772.
45. De Sermeño RF, da Silva LA, Herrera H, Herrera H, Silva RA, Leonardo MR. Tissue damage after sodium hypochlorite extrusion during root canal treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(1):e46-49.

46. De-Deus G; Barino B, Zamolyi RQ, Souza E, Fonseca Jr. A, Fidel S, Fidel RASF. Suboptimal debridement quality produced by the single-file F2 protaper technique in oval-shaped canals. J Endod. 2010; 36(11):1897–1900.
47. Delany GM, Patterson SS, Miller CH, Newton CW. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1982;53(5):518-523.
48. Denton G.W. 1991. Chlorhexidine. In: Disinfection, Sterilization and preservation. Block SS (Editor). 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.274-289.
49. de Souza-Filho FJ, Soares AJ, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CC, Gomes BP. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. Braz Dent J. 2008; 19(1): 28-33.
50. Dobó-Nagy, C., Serbán, T.; Szabó. J.; Nagy, G.; Madléna, M. A comparison of the shaping characteristics of two nickel-titanium endodontic hand instruments. Int Endod J 2002; 35(3): 283-288.
51. Doherty MA, Thomas MB, Dummer PM. Sodium hypochlorite accident—a complication of poor access cavity design. Dent Update. 2009; 36(1):7-8, 10-12.
52. Dornelles-Morgental R, Guerreiro-Tanomaru JM, De Faria-Jr NB, Hungaro-Duarte MA, Kuga C, Tanomaru-Filho M. Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011; 112(3):396-400.
53. ElAyouti A, Chu AL, Kimionis I, Klein C, Weiger R, Löst C. Efficacy of rotary instruments with greater taper in preparing oval root canals. Int Endod J. 2008; 41(12): 1088-1092.
54. Eliopoulos GM. Enterococcal endocarditis. In: Kaye D.ed. *Infective Endocarditis*. New York, USA: Raven Press. 1992; 209-223.

55. Engström B, Hard AF, Segerstad L, Ramström G, Frostell G. Correlation of positive cultures with the prognosis for root canal treatment. *Odontol Revy*. 1964;15(3): 257–270.
56. Falk KW, Sedgley CM. The influence of preparation size on the mechanical efficacy of root canal irrigation in vitro. *J Endod*. 2005; 31(10):742-745.
57. Felmingham D, Wilson APR, Quintana AI, Grüneberg RN. *Enterococcus* species in urinary tract infection. *Clin Infec Dis*. 1992; 15(2): 295-301.
58. Ferraz CCR. Avaliação *in vitro* do gel de clorexidina usado como irrigante endodôntico. [tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 1999.
59. Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. *In vitro* assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod*. 2001; 27(7): 452-455.
60. Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. *Braz Dent J*. 2007; 18(4): 294-298.
61. Figdor D. Microbial aetiology of endodontic treatment failure and pathogenic properties of selected species [dissertation]. Umeå University Odontological Dissertations No. 79. Umeå (Sweden): Umeå University; 2002.
62. Foley D.B., Weine F.S., Hagen J.C., deObarrio J.J. Effectiveness of selected irrigants in the elimination of *Bacteroides melaninogenicus* from the root canal system: an *in vitro* study. *J Endod*. 1983; 9(6): 236-241.
63. Fornari VJ, Silva-Sousa YTC, Vanni JR, Pécora JD, Versiani MA, Sousa-Neto MD. Histological evaluation of the effectiveness of increased apical enlargement for cleaning the apical third of curved canals. *Int Endod J* 2010; 43(11): 988-94.
64. Foschi, F.; Nucci, C.; Montebugnoli, L.; Marchionni, S.; Breschi, L.; Malagnino, V.A.; Prati, C. SEM evaluation of canal wall dentine following

use of Mtwo and ProTaper NiTi rotatory instruments. Int Endod J 2004; 37(12): 832-839.

65. Gambarini G, Laszkiewicz J. A scanning electron microscopic study of debris and smear layer remaining following use of GT rotary instruments. Int Endod J. 2002; 35(5): 422-427.
66. Gelinas P, Goulet J. Neutralization of the activity of eight disinfectants by organic matter. J Appl Bacteriol. 1983; 54(2): 243-247.
67. Gomes BPFA, Drucker DB, Liley JD. Association of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. Int Endod J. 1996a; 29(2): 69-75.
68. Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. Int Endod J. 1996b; 29(4): 235-241.
69. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. Int Endod J. 2001; 34(6): 424-428.
70. Gomes BPFA, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. Int Endod J. 2003a; 36(4): 267-275.
71. Gomes BPFA, Sato E, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Evaluation of time required for recontamination of coronally sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorhexidine. Int Endod J. 2003b; 36(9): 604-609.
72. Gomes BPFA, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microbiological examination of infected dental root canals. Oral Microbiol Immunol. 2004; 19(2): 71-76.
73. Gomes BP, Vianna ME, Matsumoto CU, Rossi Vde P, Zaia AA, Ferraz CC, Souza Filho FJ. Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine and

sodium hypochlorite. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005; 100(4): 512-517.

74. Gomes BPFA, Jacinto RC, Pinheiro ET, Sousa ELR, Zaia AA, Ferraz CCR *et al.* Molecular analysis of *Filifactor alocis*, *Tannerella forsythia* and *Treponema denticola* associated with primary endodontic infections and failure endodontic treatment. J Endod. 2006a; 32(10): 937-940.
75. Gomes BP, Pinheiro ET, Sousa EL, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. *Enterococcus faecalis* in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006b;102(2):247-253.
76. Gomes BP, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006c;102(4):544-550.
77. Gomes BP, Montagner F, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Almeida JF, Souza-Filho FJ. Antimicrobial action of intracanal medicaments on the external root surface. J Dent. 2009a ;37(1):76-81.
78. Gomes BP, Martinho FC, Vianna ME. Comparison of 2.5% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine gel on oral bacterial lipopolysaccharide reduction from primarily infected root canals. J Endod. 2009b; 35(10): 1350-1353.
79. Gonçalves SB, Brosco VH, Bramante CM. Comparative analysis of rotary (GT) and manual root canal preparation and association of both techniques in instrumentation of flattened root canals. J Appl Oral Sci. 2003; 11(1): 35-39.
80. Gordon TM, Damato D, Christner P. Solvent effect of various dilutions of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. J Endod. 1981; 7(10): 466-469.
81. Gordon W, Atabakhsh VA, Meza F, Doms A, Nissan R, Rizoiu I, Stevens RH. The antimicrobial efficacy of the erbium, chromium:Yttrium-scandium-

- gallium-garnet laser with radial emitting tips on root canal dentin walls infected with enterococcus faecalis. J Am Dent Assoc 2007;138(7):992-1002.
82. Gorduysus M, Nagas E, Torun OY, Gorduysus O. A comparison of three rotary systems and hand instrumentation technique for the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal. Aust Endod J. 2011; 37: 128–133.
  83. Grande NM, Plotino G, Pecci R, Bedini R, Pameijer CH, Somma F. Micro-computerized tomographic analysis of radicular and canal morphology of premolars with long oval canals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008; 106(3): e70-e76.
  84. Graninger W, Ragette R. Nasocomial bacteremia due to *E. faecalis* without endocarditis. Clin Infect. 1992; 15: 49-57.
  85. Grecca FS. Avaliação da eficácia dos métodos de instrumentação rotatória (sistema K3 e ProTaper), ultra-som e manual na remoção de corante aderido às paredes de canais radiculares com achatamento proximal. Estudo *in vitro* [tese]. Bauru: USP/FOB; 2003.
  86. Guelzow A, Stamm O, Martus P, Kielbassa AM. Comparative study of six rotary nickel–titanium systems and hand instrumentation for root canal preparation. Int Endod J. 2005; 38: 743–752.
  87. Gurgel-Filho ED, Vivacqua-Gomes N, Gomes BP, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the effectiveness of the chemomechanical preparation against *Enterococcus faecalis* after single- or multiple-visit root canal treatment. Braz Oral Res. 2007; 21(4):308-313.
  88. Gursoy UK, Bostanci V, Kosger HH. Palatal mucosa necrosis because of accidental sodium hypochlorite injection instead of anaesthetic solution. Int Endod J. 2006; 39(2):157-161.
  89. Haapasalo M, Ranta H, Ranta KT. Facultative gram-negative enteric rods in persistent periapical infections. Acta Odontol. Scand 1983; 41:19-22.

90. Haapasalo M, Ørstavik D. *In vitro* infection and disinfection of dentinal tubules. J Dent Res. 1987; 1375-1379.
91. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil JM. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. Endodontic Topics 2005; 10(1): 77–102.
92. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in Endodontics. Dent Clin N Am. 2010; 54(2): 291–312.
93. Hampson EL & Atkinson AM. The relation between drugs used in root canal therapy and permeability of the dentine. Brit. Dent. J. 1964; 116(12):546-550.
94. Han X, Yang H, Li G, Tian C, Wang Y. A study of the distobuccal root canal orifice of the maxillary second molars in Chinese individual evaluated by cone-beam computed tomography. J Appl Oral Sci. 2012; 20(5): 563-567.
95. Hancock HH III, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North America population. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2001; 91(5): 579-586.
96. Hauman CHJ, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 2. Root-canal-filling materials. Int Endod J. 2003; 36(2): 75-85.
97. Hession RW. Endodontic morphology. III. Canal preparation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1977; 44(5): 775-785.
98. Hülsmann M, Rummelin C, Schäfers F. Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments: a comparative SEM investigation. J Endod. 1997; 23(5): 301-306.
99. Hülsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation: literature review and case reports. Int Endod J. 2000; 33(3):186-193.
100. Hülsmann M, Peters OA, Dummer PMH. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. Endodontic Topics 2005; 10(1): 30–76.

101. Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigant. J Endod. 1994; 20(6): 276-278.
102. Jenkins S, Addy M, Wade W. The mechanism of action of chlorhexidine. J Clin Periodont. 1988; 15(7): 415-424.
103. Jones WG, Barie PS, Yurt RW, Goodwin CW. Enterococcal burn sepsis: a highly lethal complication in severely burned patients. Arch Surg. 1986; 121(6): 649-652.
104. Kakehashi S, Sanlay HR, Fitzberald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1965; 20(3): 340-349.
105. Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship to endodontic disease. Crit Rev Oral Biol Med. 2004; 15(5):308-320.
106. Kayaoglu G, Erten H, Alaçam T, Ørstavik D. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards enterococcus faecalis. Int Endod J 2005; 38(7):483-8.
107. Khademi AA, Mohammadi Z, Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. Aust Endod J. 2006; 32(3):112–115.
108. Khardori N, Wong E, Carrasco CH, Wallace S, Patt Y, Bodey GP. Infections associated with biliary drainage procedures in patients with cancer. Rev of Infect Dis. 1991; 13(4): 587-591.
109. Kleier DJ, Averbach RE, Mehdipour O. The sodium hypochlorite accident: experience of diplomates of the American Board of Endodontics. J Endod. 2008; 34(11): 1346-1350.
110. Krajczár K, Tigyi Z, Papp V, Marada G, Jeges S, Tóth V. Chemomechanical preparation by hand instrumentation and by Mtwo engine-driven rotary files, an *ex vivo* study. J Clin Exp Dent. 2012; 4(3):e146-150.

111. Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. *Oral Microbiol Immunol* 1997; 12(5): 318-322.
112. Lenet BJ, Komorowski R, Wu XY, *et al.* Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. *J Endod.* 2000; 26(11): 652-655.
113. Leonardo MR, Rossi MA, Silva LAB, Ito IY, Bonifácio KC. EM evaluation of bacterial biofilm and microorganisms on the apical external root surface of human teeth. *J Endod.* 2002; 28(12): 815-818.
114. Levy G. Détails de manipulation du Canal Finder au cour de différents phases de la procédure endodontique. *Chir. Dent.* 1985; 55(301): 27-32.
115. Lima FJC. Estudo *in vitro* da anatomia dos canais radiculares de molares permanentes humanos. [dissertação]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2005.
116. Liu H, Wei X, Ling J, Wang W, Huang X. Biofilm Formation Capability of *Enterococcus faecalis* Cells in Starvation Phase and Its Susceptibility to Sodium Hypochlorite. *J Endod.* 2010; 36(4): 630–635.
117. Lopes HP, Siqueira JF Jr. Endodontia: Biologia e Técnica. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010.
118. Lorenzo JL, Cavenague GS. Infecções endodônticas. *In: Microbiologia, Ecologia e Imunologia aplicadas à Clínica.* São Paulo: Atheneu; 2010.
119. Love RM. *Enterococcus faecalis*- a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J.* 2001; 34(5):399-405.
120. Machado MEL. Endodontia da Biologia à Técnica. São Paulo: Santos; 2007.
121. Machado MEL, Sapia LAB, Cai S, Martins GHR, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. *J Endod.* 2010; 36(7): 1238-1240.
122. Mahmoudpour A, Rahimi S, Sina M, Soroush MH, Shahisa S, Asl-Aminabadi N. Isolation and identification of *Enterococcus faecalis* from

- necrotic root canals using multiplex PCR. *Journal of Oral Science*. 2007; 49(3): 221-227.
123. Marchesan MA, Arruda MP, Silva-Sousa YTC, Saquy PC, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Morphometrical analysis of cleaning capacity using nickel-titanium rotary instrumentation associated with irrigating solutions in mesio-distal flattened root canals. *J Appl Oral Sci*. 2003; 11(1): 55-59.
  124. Marsh PD, Martin MV. *Oral microbiology*. 3. ed. London: Champman and Hall; 1992.
  125. Martinho FC, Chiesa WM, Marinho AC, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Gomes BPFA. Clinical investigation of the efficacy of chemomechanical preparation with Rotary NiTi files in the removal of endotoxin from primarily infected root canals. *J Endod*. 2010; 36(11): 1766-1769.
  126. Martinho FC, Cintra LTA, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Gomes, BPFA. Efficacy of chemo-mechanical preparation with different substances and the use of a root canal medication in dog's teeth with induced periapical lesion. *Dental Press Endod*. 2011; 1(1):37-45.
  127. Matos Neto M, Santos SSF, Leão MVP, Habitante SM, Rodrigues JRDD, Jorge AOC. Effectiveness of three instrumentation systems to remove *Enterococcus faecalis* from root canals. *Int Endod J*. 2012; 45 (5):435-438.
  128. Matusow RJ. Endodontic cellulitis *flare-up*. Case report. *Aust Dent Journal* 1995; 40(1): 36-38.
  129. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev*. 1999; 12(1): 147-179.
  130. McGurkin-Smith R, Trope M, Caplan D, Sigurdsson A. Reduction of Intracanal Bacteria Using GT Rotary Instrumentation, 5.25% NaOCl, EDTA, and Ca(OH)<sub>2</sub>. *J Endod*. 2005; 31(5): 359-363.

131. McHugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD. pH required to kill *Enterococcus faecalis* *in vitro*. J Endod. 2004; 30(4): 218-219.
132. Mehdipour O, Kleier DJ, Averbach RE. Anatomy of sodium hypochlorite accidents. Compend Contin Educ Dent. 2007; 28(10):544-546.
133. Mickel AK, Chogle S, Liddle J, Huffaker K, Jones JJ. The role of apical size determination and enlargement in the reduction of intracanal bacteria. J Endod. 2007; 33(1):21-23.
134. Miller W D. The decomposition of the contents of the dentinal tubules as a disturbing factor in the treatment of pulpless teeth. Dent Cosmos. 1890; 32(5): 349-357.
135. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and application of chlorhexidine in endodontics. Int Endod J. 2009; 42(4): 288–302.
136. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root filled teeth with apical periodontitis. Int Endod J. 1998; 31(1): 1-7.
137. Moorer WR, Wesselink PR. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. Int Endod J. 1982; 15(4):187-196.
138. Motta MV, Chaves-Mendonca MA, Stirton CG, Cardozo HF. Accidental injection with sodium hypochlorite: report of a case. Int Endod J. 2009; 42(2): 175-182.
139. Naenni N., Thoma K., Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. J Endod 2004; 30(11): 785-787.
140. Nair PNR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K-E, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. J Endod. 1990; 16(12): 580–588.
141. Nakamura VC. Desinfecção de canais radiculares preparados por diferentes técnicas de instrumentação e regimes de irrigação. [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2010.

142. Neelakantan P, Subbarao C, Ahuja R, Subbarao CV, Gutmann JL. Cone-beam computed tomography study of root and canal morphology of maxillary first and second molars in an indian population. *J Endod* 2010; 36(10): 1622-1627.
143. Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JA. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. *Int Endod J*. 2004; 37(1): 38–41.
144. Ozdemir HO, Buzoglu HD, Calt S, Stabbolz A, Steinberg D. Effect of Ethylenediaminetetraacetic acid and sodium hypochlorite irrigation on *Enterococcus faecalis* biofilm colonization in young and old human root canal dentin: *in vitro* study. *J Endod*. 2010; 36(5): 842–846.
145. Paiva JG, Antoniazzi JH. Endodontia, bases para a prática clínica. São Paulo: Artes Médicas Ltda;1991.
146. Paqué F, Barbakow F, Peters OA. Root canal preparation with Endo-Eze AET: changes in root canal shape assessed by micro-computed tomography. *Int Endod J*. 2005; 38(7): 456-464.
147. Paqué F, Balmer M, Attin T, Peters OA. Preparation of oval-shaped root canals in mandibular molars using nickel-titanium rotary instruments: a micro-computed tomography study. *J Endod*. 2010; 36(4): 703-707.
148. Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. *J Endod*. 1985; 11(12): 525-528.
149. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in Lithuanian population. *J Endod*. 2000; 26(10): 593-595.
150. Pécora JD, Woelfel JB, Sousa Neto MD, Issa EP. Morphology study of the maxillary molars part II: internal anatomy. *Braz Dent J*. 1992; 3(1): 53–57.
151. Pécora JD & Capelli A. Técnica mecanizada para preparo dos canais radiculares ProTaper plus - 2004. [acesso 2010 Aug 14]. Disponível em:

[http://www.forp.usp.br/restauradora/rotatorios/protaper\\_plus/protaper\\_plus.pdf](http://www.forp.usp.br/restauradora/rotatorios/protaper_plus/protaper_plus.pdf)

152. Perez F, Rochd T, Lodter JP. *In vitro* study of the penetration of three bacterial strains into root dentine. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1993; 76(1): 97-103.
153. Perin FM, França SC, Silva-Sousa YTC, Alfredo E, Saquy PC, Estrela C, Sousa-Neto MD. Evaluation Of The Antimicrobial Effect Of Er:YAG Laser Irradiation Versus 1 YO Sodium Hypochlorite Irrigation For Root Canal Disinfection. Aust Dent Journal. 2004; 30(1): 20-22.
154. Peikoff MD, Christie WH, Fogel HM. The maxillary second molar: variations in the number of roots and canals. Int Endod J. 1996; 29(6): 365–369.
155. Pinheiro ET. Estudo da microbiota de canais de dentes tratados endodonticamente associados a lesões periapicais e da suscetibilidade de *Enterococcus faecalis* a diferentes antimicrobianos [tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2005.
156. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. Oral Microbiol Immunol. 2003a; 18(2): 100 –103.
157. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. Int Endod J. 2003b; 36(1): 1–11.
158. Pinheiro ET, Gomes BP, Drucker DB, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus faecalis* isolated from canals of root filled teeth with periapical lesions. Int Endod J. 2004; 37(11):756-763.
159. Pinheiro ET, Anderson MJ, Gomes BP, Drucker DB. Phenotypic and genotypic identification of enterococci isolated from canals of root-filled teeth with periapical lesions. Oral Microbiol Immunol. 2006; 21(3):137-144.

160. Rabang HRC. Análise radiográfica e microbiológica de canais radiculares de dentes de cães com lesão periapical antes e após preparo químico-mecânico. [tese]. Piracicaba: FOP/UNICAMP; 2009.
161. Rams TE, Feik D, Young V, Hammond BF, Slots J. Enterococci in human periodontitis. Oral Microbiol Immunol. 1992; 7(4): 249-252.
162. Ranta K, Haapasalo M, Renta H. Monoinfection of root canal with *Pseudomonas aeruginosa*. Endod Dent Traumatol 1988; 4(6): 269-272.
163. Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2010; 36(3): 520-523.
164. Richet H, Hubert B, Nitemberg A, Andremont A, Buu-Hoi P, Ourbak P *et al.* Prospective multicentre study of vascular catheter related complications and risk factors for positive central catheter cultures in intensive care unit patients. J Clin Microbiol .1990; 28(11): 2520-2525.
165. Riitano F. Anatomic Endodontic Technology (AET) - A crown-down root canal preparation technique: basic concepts, operative procedure and instruments. Int Endod J. 2005; 38(8): 575-587.
166. Rôças IN, Siqueira JF Jr, Santos KRN. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. J Endod. 2004; 30(5): 315–320.
167. Rödiger T, Hülsmann M, Mühge M, Schäfers F. Quality of preparation of oval distal root canals in mandibular molars using nickel-titanium instruments. Int Endod J. 2002; 35(11): 919.
168. Rollison S, Barnett F, Stevens RH. Efficacy of bacterial removal from instrumented root canals in vitro related to instrumentation technique and size. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002; 94(3): 366-371.

169. Rosenthal S, Spangberg L, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 2004; 98(4):488-492.
170. Ruoff KL, de la Marza L, Murtagh MJ, Spargo JD, Ferraro MJ. Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1990; 28(3): 435-437.
171. Russel AD, Day MJ. Antibacterial activity of chlorhexidine. *J Hosp Infect* 1993; 25(4): 229-238.
172. Santana SVS. Avaliação da desinfecção do canal radicular frente ao preparo químico-cirúrgico por meio rotatório associado ou não a tratamento químico complementar [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2008.
173. Schäfer E, Schlingemann R. Efficiency of rotary nickel-titanium K3 instruments compared with stainless steel Hand K-Flexofile. Part 2. Cleaning effectiveness and shaping ability in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J.* 2003; 36(3): 208-217.
174. Schäfer E & Vlassis M. Comparative investigation of two rotary nickel-titanium instruments: ProTaper versus RaCe. Part 1. Shaping ability in simulated curved canals. *Int Endod J.* 2004; 37(4): 229-238.
175. Schäfer E, Erler M, Dammaschke T. Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments. Part 1. Shaping ability in simulated curved canals. *Int Endod J.* 2006;39(3): 196-202.
176. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *D. Clin. N. Amer.* 1974; 18(2): 269-296.
177. Schirrmeister JF, Strohl C, Altenburger MJ, Wrbas KT, Hellwig E. Shaping ability and safety of five different rotary nickel-titanium instruments compared with stainless steel hand instrumentation in simulated curved root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101(6): 807-813.

178. Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals *ex vivo*. Int Endod J. 2005; 38(10): 735-742.
179. Sempira HN, Hartwell GR. Frequency of second mesiobuccal canals in maxillary molars as determined by use of an operating microscope: a clinical study. J Endod. 2000; 26(11):673–674.
180. Sena NT. Estudo *in vitro* da atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio e da clorexidina usados como substâncias químicas auxiliares frente a biofilmes de espécie única. [dissertação]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2005.
181. Sena NT, Gomes BP, Vianna ME, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. Int Endod J. 2006; 39(11):878-885.
182. Shuping GB, Ørstavik D, Sigurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. J Endod. 2000; 26(12): 751–755.
183. Signoretti FGC. Avaliação *in vitro* da influência da clorexidina 2% gel no pH, liberação de cálcio e ação sobre endotoxinas do hidróxido de cálcio. [Dissertação] UNICAMP/FOP, 2009.
184. Signoretti FG, Gomes BP, Montagner F, Barrichello Tosello F, Jacinto RC. Influence of 2% chlorhexidine gel on calcium hydroxide ionic dissociation and its ability of reducing endotoxin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011; 111(5): 653-658.
185. Simões W, Sampaio JMP, Debelian, GD. Verificação da tolerância tecidual e poder bactericida do hipoclorito de sódio a 0,5% e 1% usados na clínica odontológica. Rev Paul Odontol. 1989; 11(4): 35-41.
186. Simon ST, Bhat KS, Francis R. Effect of four vehicles on the calcium hydroxide and the release of calcium ion. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 1995; 4(80): 459-464.

187. Singla M, Aggarwal V, Logani A, Shah N. Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in *Enterococcus faecalis* colony-forming units and vertical root fracture resistance of root canals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010; 109(3): e105-e110.
188. Siqueira DCR. Avaliação comparativa *in vivo* da atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 1%, da Clorexidina a 2% e do detergente derivado do óleo de mamona a 10%, utilizados como soluções irrigadoras em Endodontia. [dissertação]. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru/ USP; 2005.
189. Siqueira JF Jr, de Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium associated with three vehicles. J. Endod. 1997; 23(3):167-169.
190. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Lopes HP, de Uzeda M. Coronal leakage of two root canal sealers containing calcium hydroxide after exposure to human saliva. J Endod. 1999; 25(1): 14-6.
191. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bactericidal population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2,5%, and 5,25% sodium hypochlorite. J Endod. 2000; 26(6):331-334.
192. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Santos SRLD, Lima KC, Magalhães FAC, de Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. J Endod. 2002; 28(3): 181-184.
193. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 1—current molecular technologies for microbiological diagnosis. J Endod. 2005; 31(6):411–423.
194. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Riche FNSJ, Provenzano JC. Clinical outcome of the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis using an

- antimicrobial protocol. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 106(5): 757-762.
195. Siren EK, Haapasalo MPP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo ENJ. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J* 1997; 30(2): 91-95.
  196. Sjögren U, Happonen RP, Kahnberg KE, Sundqvist G. Survival of *Arachnia propionica* in periapical tissue. *Int Endod J.* 1988; 21(4): 277- 282.
  197. Sjögren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod.* 1990;16(10): 498 –504.
  198. Spangberg L, Engström B, Langeland K. Biologic effects of dental materials 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics *in vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1973; 36(6); 856-870.
  199. Spangberg LSM. Endodontic Medicaments. In: Smith DC & Williams DF, eds. *Biocompatibility of Dental Materials* 1 st edn. Boca Raton, USA: CRC Press 1982: 223-257.
  200. Sundqvist G. Bacteriologic studies of necrotic dental pulps. *Odontological Dissertation n° 7.* University of Umea, Sweden 1976.
  201. Sundqvist GK, Eckerbom MI, Larsson AP, Sjogren UT. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. *Infect Immun.* 1979; 25(2): 685-693.
  202. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod* 1992a; 18(9):427-430.
  203. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol.* 1992b; 7(5): 257–262.
  204. Sundqvist G, Figdor D, Person S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; 85(1): 86-93.

205. Sundqvist G. Life as an endodontic pathogen Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endod Topics*. 2003; 6(1): 3-28.
206. Sydney GB. In: Cardoso, RJA, Gonçalves EAN. *Endodontia / Trauma*. São Paulo. Artes Médicas, 2002.
207. Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LA, Anibal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solution. *Int Endod J*. 2002; 35(9): 735-739.
208. Tuttle R. The endo-eze system: A technique guide. *Compendium in the continuing education in dentistry*. 2004; 25(10A): 842-844.
209. Usman N, Baumgartner JG, Marshall JG. Influence of instrument size on root canal debridement. *J Endod*. 2004; 30(2):110-112.
210. Vaudt J, Bitter K, Neumann K, Kielbassa AM. *Ex vivo* study on root canal instrumentation of two rotary nickel–titanium systems in comparison to stainless steel hand instruments. *Int Endod J*. 2009; 42(1): 22–33.
211. Versiani MA, Pécora JD, De Sousa-Neto MD. Root and root canal morphology of four-rooted maxillary second molars: A micro-computed tomography study. *J Endod* 2012; 38(7): 977-982.
212. Vianna M.E. Atividade antimicrobiana de alguns medicamentos utilizados como irrigantes e medicações intracanaís [dissertação]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2002.
213. Vianna ME, Gomes BPFA, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004; 97(1): 79-84.
214. Vianna ME, Horz HP, Gomes BPFA, Conrads G. *In vivo* evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J*. 2006; 39(6): 484-492.

215. Vianna ME, Horz HP, Conrads G, Zaia AA, Souza-Filho FJ, Gomes BPFA. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immunol*. 2007; 22(6):1–8.
216. Vijaykumar S, GunaShekhar M, Himagiri S. In vitro effectiveness of different endodontic irrigants on the reduction of *Enterococcus faecalis* in root canals. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry* 2010; 2(4): e169-172.
217. Vivacqua-Gomes N, Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Influence of irrigants on the coronal microleakage of laterally condensed gutta-percha root fillings. *Int Endod J*. 2002; 35(9): 791-795.
218. Vivacqua-Gomes N, Gurgel-Filho ED, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Recovery of *Enterococcus faecalis* after single- or multiple-visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. *Int Endod J*. 2005; 38(10): 697-704.
219. Walia H, Brantley WA, Gerstein H. An initial investigation of bending and torsional properties of Nitinol root canal files. *J Endod* 1988; 14(7): 346-351.
220. Walker A. A definitive and dependable therapy for pulpless teeth. *J Am Assoc* 1936; 23(8): 1418-1424.
221. Walton R. Histologic evaluation of different methods of enlarging the pulp canal space. *J Endod*. 1976; 2(10): 304-311.
222. Wang C, Arnold RR, Trope M, Teixeira FB. Clinical efficiency of 2% chlorhexidine gel in reducing intracanal bacteria. *J Endod*. 2007; 33(11): 1283-1289.
223. Weiger R, ElAyouti A, Löst C. Efficiency of hand and rotary instruments in shaping oval root canals. *J Endod*. 2002; 28(8): 580-583.
224. White M. Endodontic system conserves canal anatomy with minimally invasive techniques. *Dental Town magazine*. 2002; 3: 26-30.
225. Wittgow WC, Sabiston CB. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. *J Endod*. 1975; 1(5):168- 171.

226. Witton R, Brennan PA. Severe tissue damage and neurological deficit following extravasation of sodium hypochlorite solution during routine endodontic treatment. *Br Dent J.* 2005; 25; 198(12): 749-750.
227. Wu MK, Wesselink PR. Efficacy of three techniques in cleaning the apical portion of curved root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995; 79(4): 492-496.
228. Wu MK, Roris A, Barkis D, Wesselink PR. Prevalence and extent of long oval canals in the apical third. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000; 89(6); 739-743.
229. Wu MK & Wesswlink PR. A primary observation on the preparation and obturation of oval canals. *Int Endod J.* 2001; 34(2): 137-141.
230. Wu MK, Barkis D, Roris A, Wesselink PR. Does the first file to bind correspond to the diameter of the canal in the apical region? *Int Endod J.* 2002; 35(3): 264-267.
231. Wu MK, Sluis LWM, Wesswlink PR. The capability of two hand instrumentation techniques to remove the inner layer of dentine in oval canals. *Int Endod J.* 2003; 36(3): 218-224.
232. Young GR, Parashos P, Messer H. The principles of techniques for cleaning root canals. *Aust Dent J.* 2007; 52:(1 Suppl):S52-S63.
233. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006; 32(5): 389–398.
234. Zmener O, Pameijer CH, Banegas G. Effectiveness in cleaning oval-shaped root canals using Anatomic Endodontic Technology, ProFile and manual instrumentation: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J.* 2005; 38(6): 356-363.
235. Zou L, Shen Y, Li W, Haapasalo M. Penetration of Sodium Hypochlorite into Dentin. *J Endod.* 2010; 36(5): 793–796.



## ANEXO I – CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**  
**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**



### CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa **"Avaliação in vitro da redução de Enterococcus faecalis dos canais radiculares variando os sistemas de instrumentação e as substâncias irrigadoras"**, protocolo nº 114/2012, dos pesquisadores Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, Cimara Barroso Braga Brum e Geovania Caldas Almeida, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 04/12/2012.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project **"In vitro assessment of Enterococcus faecalis reduction in root canals varying systems instrumentation and irrigants"**, register number 114/2012, of Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, Cimara Barroso Braga Brum and Geovania Caldas Almeida, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 12/04/2012.



**Prof. Dra. Lívia Maria Andakó Tenuta**  
 Secretário  
 CEP/FOP/UNICAMP



**Prof. Dr. Jackes Jorge Junior**  
 Coordenador  
 CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.  
 Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.



## APÊNDICE I

Tabela apresentando torque/velocidade utilizados em cada sistema de instrumentação rotatória empregados nesse estudo.

|                                                    | INSTRUMENTO        | TORQUE (Ncm) | VELOCIDADE (rpm) |
|----------------------------------------------------|--------------------|--------------|------------------|
| PROTAPER (MACHADO, 2007)<br>TERÇO CERVICAL E MÉDIO | SX                 | 4            | 350              |
|                                                    | S2                 | 4            | 350              |
| PROTAPER (MACHADO, 2007)<br>TERÇO APICAL           | S1                 | 1            | 300              |
|                                                    | S2                 | 1            | 300              |
|                                                    | F1                 | 1            | 300              |
|                                                    | F2                 | 1            | 300              |
|                                                    | F3                 | 1            | 300              |
| PROTAPER (FABRICANTE)                              | SX                 | 3 a 4        | 300              |
|                                                    | S1                 | 2 a 3        | 300              |
|                                                    | S2                 | 1 a 1,5      | 300              |
|                                                    | F1                 | 1,5 a 2      | 300              |
|                                                    | F2                 | 2 a 3        | 300              |
|                                                    | F3                 | 2 a 3        | 300              |
| MTWO (FABRICANTE)                                  | 10/ .04            | 1.2          | 280              |
|                                                    | 15/ .05            | 1.3          | 280              |
|                                                    | 20/ .06            | 2.1          | 280              |
|                                                    | 25/ .06            | 2.3          | 280              |
|                                                    | 30/ .05            | 1.2          | 280              |
|                                                    | 35/ .04            | 1.2          | 280              |
|                                                    | 40/ .04            | 1.6          | 280              |
|                                                    | 45/ .04            | 1.6          | 280              |
|                                                    | 50/ .04            | 2.0          | 280              |
|                                                    | 60/ .04            | 3.0          | 280              |
|                                                    | 25/ .07            | 2.0          | 280              |
|                                                    | 30/ .06            | 1.2          | 280              |
|                                                    | 35/ .06            | 1.0          | 280              |
|                                                    | 40/ .06            | 1.7          | 280              |
| ENDO EZE (contra-ângulo redutor 4:1)               | 10/ .025. amarela  | 1            | 8000             |
|                                                    | 13/ .035. vermelha | 1            | 8000             |
|                                                    | 13/ .045. azul     | 1            | 8000             |
|                                                    | 13/ .060. verde    | 1            | 8000             |



## APÊNDICE II

Tabela apresentando conicidade/ diâmetro dos instrumentos ProTaper. <sup>†</sup>

|     | SX    |       | S1    |       | S2    |       | F1    |       | F2    |       | F3    |       |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| L   | TAPER | TIP   | TAPER | TIP   | TAPER | TIP   | TAPER | TIP   | TAPER | TIP   | TAPER | TIP   |
| D0  | -     | 0,190 | -     | 0,185 | -     | 0,200 | -     | 0,200 | -     | 0,250 | -     | 0,300 |
| D1  | 3,5%  | 0,225 | 2,0%  | 0,205 | 4,0%  | 0,240 | 7,0%  | 0,270 | 8,0%  | 0,330 | 9,0%  | 0,390 |
| D2  | 4,5%  | 0,270 | 3,0%  | 0,235 | 4,5%  | 0,285 | 7,0%  | 0,340 | 8,0%  | 0,410 | 9,0%  | 0,480 |
| D3  | 5,5%  | 0,325 | 4,0%  | 0,275 | 5,0%  | 0,335 | 7,0%  | 0,410 | 8,0%  | 0,490 | 9,0%  | 0,570 |
| D4  | 6,5%  | 0,390 | 4,5%  | 0,320 | 5,5%  | 0,390 | 5,5%  | 0,465 | 6,0%  | 0,550 | 7,0%  | 0,640 |
| D5  | 8,5%  | 0,475 | 5,0%  | 0,370 | 6,0%  | 0,450 | 5,5%  | 0,520 | 6,0%  | 0,610 | 7,0%  | 0,710 |
| D6  | 11,0% | 0,585 | 6,0%  | 0,430 | 6,0%  | 0,510 | 5,5%  | 0,575 | 5,5%  | 0,665 | 5,0%  | 0,760 |
| D7  | 14,5% | 0,730 | 7,0%  | 0,500 | 6,0%  | 0,570 | 5,5%  | 0,630 | 5,5%  | 0,720 | 5,0%  | 0,810 |
| D8  | 17,0% | 0,900 | 8,0%  | 0,580 | 6,0%  | 0,630 | 5,5%  | 0,685 | 5,5%  | 0,775 | 5,0%  | 0,860 |
| D9  | 19,0% | 1,090 | 9,0%  | 0,670 | 6,0%  | 0,690 | 5,5%  | 0,740 | 5,5%  | 0,830 | 5,0%  | 0,910 |
| D10 | 2,0%  | 1,110 | 10,0% | 0,770 | 7,0%  | 0,760 | 5,5%  | 0,795 | 5,5%  | 0,885 | 5,0%  | 0,960 |
| D11 | 2,0%  | 1,130 | 10,0% | 0,870 | 9,0%  | 0,850 | 5,5%  | 0,850 | 5,5%  | 0,940 | 5,0%  | 1,010 |
| D12 | 2,0%  | 1,150 | 10,5% | 0,975 | 10,5% | 0,955 | 5,5%  | 0,905 | 5,5%  | 0,995 | 5,0%  | 1,060 |
| D13 | 2,0%  | 1,170 | 10,5% | 1,080 | 11,5% | 1,070 | 5,5%  | 0,960 | 5,5%  | 1,050 | 5,0%  | 1,110 |
| D14 | 2,0%  | 1,190 | 11,0% | 1,190 | 11,5% | 1,185 | 5,5%  | 1,015 | 5,5%  | 1,105 | 5,0%  | 1,160 |
| D15 | -     | 1,190 | 11,0% | 1,200 | 11,5% | 1,200 | 5,5%  | 1,070 | 5,5%  | 1,160 | 5,0%  | 1,200 |
| D16 | -     | 1,190 | -     | 1,200 | -     | 1,200 | 5,5%  | 1,125 | 4,0%  | 1,200 | -     | 1,200 |

<sup>†</sup> Reproduzida do site [http://www.dentsply.com.br/isogesac/imgcatologo/clinical3\\_protaper.pdf](http://www.dentsply.com.br/isogesac/imgcatologo/clinical3_protaper.pdf)

Moreira E JL, Lopes HP. Instrumentos Protaper. Sistema de instrumentos com conicidades variadas. Clinical update Dentply. Pg. 1-4.