



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

LAURA PRISCILLA AMPARO GONÇALVES

**EFEITO IN VITRO DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE
AGITAÇÃO NA EXTRUSÃO APICAL DE IRRIGANTES EM
DENTES COM RIZOGÊNESE INCOMPLETA SIMULADA:
UMA ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA**

PIRACICABA

2022

LAURA PRISCILLA AMPARO GONÇALVES

**EFEITO IN VITRO DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE
AGITAÇÃO NA EXTRUSÃO APICAL DE IRRIGANTES EM
DENTES COM RIZOGÊNESE INCOMPLETA SIMULADA:
UMA ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos
requisitos exigidos para obtenção do título de
Cirurgião Dentista.

Orientador: Prof(a). Dr(a). Adriana de Jesus Soares

Coorientador: Walbert de Andrade Vieira

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DO
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO
PELA ALUNA Laura Priscilla Amparo Gonçalves E
ORIENTADA PELA PROF(A). DR(A). Adriana de Jesus
Soares

PIRACICABA

2022

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

Gonçalves, Laura Priscilla Amparo, 1998-
G586e Efeito in vitro de diferentes protocolos de agitação na extrusão apical de irrigantes em dentes com rizogênese incompleta simulada : uma análise espectrofotométrica / Laura Priscilla Amparo Gonçalves. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Adriana de Jesus Soares.

Coorientador: Walbert de Andrade Vieira.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Endodontia regenerativa. 2. Descontaminação. 3. Espectrofotometria. 4. Hipoclorito de sódio. I. Soares, Adriana de Jesus, 1970-. II. Vieira, Walbert de Andrade, 1994-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Informações adicionais, complementares

Título em outro idioma: In vitro effect of different agitation protocols on the apical extrusion of irrigants in yeeth with simulated incomplete rhizogenesis: a spectrophotometric analysis

Palavras-chave em inglês:

Regenerative endodontics

Decontamination

Spectrophotometry

Sodium hypochlorite

Titulação: Cirurgião-Dentista

Data de entrega do trabalho definitivo: 30-11-2022

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe Ednólia e meu pai Alberto que sempre caminharam ao meu lado independente do momento ou circunstância da minha vida, e que a todo momento estiveram com suas mãos estendidas e braços abertos para me acolher e encorajar a continuar com esse meu propósito.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me feito chegar e me sustentado até aqui.

A professora Adriana de Jesus Soares por ter me dado a oportunidade desse trabalho que foi de extrema importância para minha formação como futura profissional e por ter inspirado meu interesse na área da endodontia.

Ao meu coorientador Walbert de Andrade Vieira, que foi mais que essencial para a conclusão deste trabalho, por todo conhecimento que me foi transmitido, toda paciência e cuidado ao ensinar e orientar. Tenho ainda imensa gratidão por ter sido alguém que me ajudou em diversos momentos da minha vida acadêmica, fazendo também com que fosse possível que eu chegasse até aqui.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas (FOP- UNICAMP) na pessoa do seu Diretor Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar e da diretora associada Profa. Dra. Karina Gonzalez Silvério Ruiz, juntamente com seu corpo docente.

Aos meus pais Ednólia e Alberto por estarem desde o princípio ao meu lado nessa caminhada e também correndo comigo nos momentos adversos, por não me deixarem desanimar com as intempéries da vida e também celebrar junto a mim cada pequena conquista dessa trajetória, por me ensinar a sempre ser grata a Deus e colocá-lo à frente de tudo e por toda oração

A todos amigos que jamais esquecerei o que cada um significou ao longo desse percurso.

A todos funcionários que sempre tiveram paciência e estiveram com a mão estendida quando necessitei de auxílio, Paulo, Reis, Kátia, Luis, Cristiane, Tatiane, Elisângela e Feliciano.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro* o volume de irrigantes extruídos após aplicação de diferentes técnicas de agitação durante a descontaminação passiva de dentes com rizogênese incompleta simulada. Quarenta e cinco dentes humanos unirradiculares foram preparados de modo que simulassem dentes com rizogênese incompleta com 7mm de comprimento. Os espécimes foram irrigados com 20 ml de hipoclorito de sódio (NaOCl), durante 5 minutos, e distribuídos em três grupos (n=15) de acordo com o protocolo de agitação (sem agitação, agitação ultrassônica e agitação com EasyClean®). Para avaliação da extrusão apical do NaOCl, os espécimes foram moldados em silicona de condensação hidrofóbica. Após os procedimentos de irrigação e agitação, o volume de irrigante presente na silicona foi coletado, quantificado por meio de espectrofotometria e descrito em uL. Os dados foram analisados por meio do teste ANOVA e nível de significância de 5%. Todos os grupos apresentaram extrusão de irrigante, sem diferença estatística significativa entre eles ($p>0.05$). Pode-se concluir que a agitação do NaOCl por meio do ultrassom ou EasyClean não causa maior extrusão apical de irrigante quando comparado à não agitação.

Palavras-chave: Procedimento Endodôntico Regenerativo. Irrigação. Agitação. Descontaminação.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate *in vitro* the volume of irrigant extruded after application of different agitation techniques during passive decontamination of teeth with simulated incomplete root formation. Forty-five single-root human teeth were prepared so as to simulate teeth with incomplete rhizogenesis with a length of 7 mm. The specimens were irrigated with 20 ml of sodium hypochlorite (NaOCl) for 5 minutes and distributed into three groups (n=15) according to the agitation protocol (no agitation, ultrasonic agitation and agitation with EasyClean®). To evaluate the apical extrusion of NaOCl, the specimens were molded in hydrophobic condensation silicone. After the irrigation and agitation procedures, the volume of irrigant present in the silicone was collected, quantified by spectrophotometry and described in μL . Data were analyzed using the ANOVA and 5% significance level. All groups showed irrigant extrusion, with no statistically significant difference between them ($p>0.05$). It can be concluded that agitation of NaOCl by ultrasound or EasyClean does not cause greater apical extrusion of irrigant when compared to no agitation.

Keywords: Regenerative Endodontic Procedure. Irrigation. agitation. decontamination.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 PROPOSIÇÃO	12
3 REVISÃO DA LITERATURA	13
4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
5 RESULTADOS	30
6 DISCUSSÃO	31
7 CONCLUSÃO	33
8 REFERÊNCIAS	34
9 ANEXOS	
Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio	39
Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa	40
Anexo 3 – Iniciação Científica	42

1 INTRODUÇÃO

Clínicos têm adotado o procedimento endodôntico regenerativo (PER) como tratamento de primeira escolha nos casos de necrose pulpar de dentes permanentes imaturos que não necessitarão de tratamento reabilitador com retentores intraradiculares (American Association of Endodontists, 2018). Os principais objetivos do PER são eliminar sinais e sintomas de infecção e promover o fortalecimento e crescimento das paredes do canal radicular, além do fechamento apical e retorno da resposta positiva aos testes de vitalidade, por meio da formação de novo tecido no interior do canal radicular (Kahler et al., 2017).

A efetiva descontaminação do conteúdo infeccioso do canal radicular de dentes com rizogênese incompleta representa um importante fator para o sucesso de PER (Fouad, 2020). Bactérias são os microorganismos mais comumente encontrados nos canais radiculares (Gomes et al., 2018), os quais se organizam em comunidades denominadas biofilmes. Biofilmes podem ser comunidades altamente organizadas e compostos por diversas espécies bacterianas. Nagata et al. (2014) caracterizaram a microbiota de dentes com rizogênese incompleta submetidos ao PER, revelando que tais infecções intrarradiculares são compostas por microbiota mistas de bactérias gram-positivas e gram-negativas, semelhantes às infecções endodônticas de dentes maduros, com elevada prevalência das espécies *Actinomyces naeslundii*, *Porphyromonas endodontalis*, *Parvimonas micra* e *Fusobacterium nucleatum* (Nagata et al., 2014). A presença de bactérias residuais no interior dos canais de dentes imaturos submetidos a PERs tem impacto negativo no ganho de espessura das paredes dentinárias (De-Jesus-Soares et al., 2020) e pode interferir nos processos de diferenciação das células indiferenciadas da papila apical e/ou do ligamento periodontal (Vishwanat et al., 2017).

Os protocolos clínicos recomendados AAE (2018) preconizam que dentes com rizogênese incompleta submetidos ao PER sejam descontaminados de forma passiva (sem instrumentação mecânica) com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1.5% associado a medicações intracanaís. O NaOCl é amplamente utilizado como substância química auxiliar na prática endodôntica convencional devido à sua elevada ação antimicrobiana, redução de endotoxinas presentes no canal radicular e capacidade de dissolução de tecidos orgânicos (Ruksakiet et al., 2020). Estudo clínico em dentes

com rizogênese incompleta submetidos ao PER demonstram que após a irrigação com NaOCl, houve significativa redução bacteriana em relação aos níveis de contaminação iniciais, mesmo sem qualquer tipo de instrumentação mecânica (Nagata et al., 2014). Além disso a utilização de NaOCl em PER também foi associado a elevadas taxas de sucesso (De-Jesus Soares et al., 2020; Cerqueira-Neto et al., 2021), demonstrando ausência de sintomatologia dolorosa à percussão e palpação, cura de abscessos e regressão de lesões periapicais.

Técnicas de agitação de solução químicas auxiliares têm sido propostas a fim de aumentar a eficácia das substâncias químicas utilizadas no tratamento endodôntico (Cheung et al., 2021). A irrigação ultrassônica passiva (PUI) consiste na transmissão de energia acústica de um inserto em oscilação para agitar a solução irrigadora. Essa energia é conduzida por ondas ultrassônicas que criam correntes e cavitações durante a transmissão acústica do irrigante (van der Sluis et al., 2005). A agitação de soluções irrigadoras com o PUI demonstrou potencializar a remoção de biofilmes bacterianos (Teves et al., 2021) e fatores de virulência (Aveiro et al., 2020) quando comparado à irrigação convencional. Além do PUI, a utilização de instrumentos acionados por motor elétrico com movimentos rotatórios e reciprocantes para a agitação de substâncias irrigadoras foram recentemente introduzidos como alternativa para a remoção de biofilmes bacterianos. Dentre tais instrumentos, o EasyClean® (Easy Equipamentos Odontológicos, Belo Horizonte, Brasil) não afeta mecanicamente as paredes do canal, fazendo deste instrumento atrativo para a potencialização da atividade de substâncias químicas irrigadoras em PER.

Apesar de inúmeras vantagens, um possível efeito da agitação das soluções é o extravasamento de substâncias para os tecidos periapicais. No contexto de protocolos de descontaminação para o tratamento de dentes com rizogênese incompleta submetidos ao PER, esse achado tem importância significativa, uma vez que a extrusão de soluções irrigadoras pode afetar diretamente a viabilidade das células mesenquimais indiferenciadas presentes na papila apical, além de provocar dor ou intercorrências intraoperatórias. Um estudo *in vitro* avaliou que o diâmetro apical influencia diretamente na quantidade de extrusão de solução irrigadora (Aksel et al., 2014); dessa forma, estudos específicos para dentes com rizogênese incompleta simulada devem ser realizados. Observando os estudos publicados nos últimos dez anos, nota-se que apenas seis estudos *in vitro* investigaram esse

desfecho em dentes com rizogênese incompleta simulada associando irrigação e agitação das substâncias (Velmurugan et al., 2014; Jamleh et al., 2016; Nesser and Bshara, 2019; Sharma et al., 2020; Dos Reis et al., 2020; Takagi et al., 2021). Esses estudos foram publicados entre 2016 e 2021, e apresentaram diferentes metodologias de avaliação e de agitação. Entre os 4 estudos, o método de agitação mais comum foi o ultrassom. Partindo desse ponto, a originalidade e pertinência da avaliação desse desfecho no presente projeto pode ser justificada por dois pontos: 1) Todas são estudos in vitro, o que significa que o nível de evidência científica é baixo, o que justifica a realização de novos estudos; 2) Nenhum dos estudos citados realizou análise espectrofotométrica do volume do hipoclorito de sódio extruído, o que representa método quantitativo objetivo e confiável de mensuração. Esse estudo testou a hipótese nula de que não há diferença entre os grupos experimentais em relação à extrusão apical de NaOCl em dentes com rizogênese incompleta simulada.

2 PROPOSIÇÃO

Avaliar *in vitro* a extrusão apical de hipoclorito de sódio após diferentes técnicas de agitação em dentes com rizogênese incompleta simulada.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Importância da descontaminação passiva durante o PER

A descontaminação do canal radicular durante o preparo endodôntico é uma das etapas fundamentais para o sucesso do tratamento. Quando falamos sobre a regeneração endodôntica, isso se torna ainda mais imprescindível, pois as células necessitam de um ambiente favorável para seu crescimento e proliferação.

Iwata et al. (2001) descreveram o primeiro relato de caso clínico de um dente submetido ao PER, chamado à época de revascularização. O caso descreveu o tratamento endodôntico de um segundo pré-molar inferior necrosado com abscesso e fístula de um jovem de 13 anos. Radiograficamente, o dente apresentava uma lesão periapical de 10mm de diâmetro e ápice aberto e clinicamente o dente não respondia aos testes de sensibilidade pulpar ao frio ou ao estímulo elétrico. O canal não foi instrumentado, sendo utilizado apenas um protocolo de descontaminação utilizando hipoclorito de sódio 5% e peróxido de hidrogênio a 3%. Associado à descontaminação com agentes irrigantes, os autores também inseriram uma pasta antibiótica contendo metronidazol e ciprofloxacino. Após a 5ª visita, os autores observaram a presença de um tecido vital no interior no canal radicular, aproximadamente nos 5mm apicais. Sobre esse tecido, os autores aplicaram uma pasta de hidróxido de cálcio, e o dente foi selado com ionômero de vidro e resina composta. No controle clínico de 36 meses após o tratamento, os autores observaram um fechamento apical e aumento na espessura das paredes do canal, além de remissão total dos sinais e sintomas.

Banchs & Trope (2004) propuseram o primeiro protocolo clínico a ser aplicado nos PER. Os autores relataram o protocolo por meio do tratamento de um segundo pré-molar inferior de um jovem de 11 anos. O dente foi diagnosticado com necrose pulpar e abscesso periapical crônico. Ao momento da primeira consulta, o paciente apresentava-se assintomático, porém com uma lesão periapical extensa observada radiograficamente e fístula associada à lesão, além de sensibilidade aos exames de percussão e palpação. Após o acesso endodôntico, observou-se uma drenagem de conteúdo purulento via canal. O canal foi lentamente irrigado com hipoclorito de sódio a 5.25%, e ao final, uma pasta triplo antibiótica (metronidazol, ciprofloxacino e minociclina) foi inserida no canal. O paciente retornou após 26 dias, assintomático e relatando nenhuma dor pós-operatória. O dente foi novamente acessado e irrigado

com 10ml de hipoclorito de sódio 5.25%. O canal foi seco com pontas de papel absorvente e um sangramento apical foi estimulado com o uso de uma sonda. Os autores posicionaram uma camada de MTA sobre o coágulo sanguíneo e o dente foi selado com ionômero de vidro. Duas semanas depois o paciente retornou assintomático e o ionômero foi substituído por uma restauração de resina composta. Após 24 meses de acompanhamento, o paciente permaneceu assintomático, e radiograficamente observou-se um fechamento apical e aumento da espessura da raiz.

Lovelace et al. (2011) realizaram um estudo com 8 pacientes com idades entre 10,5 a 2,7 anos, em dentes com diagnóstico de necrose pulpar e periodontite apical sintomática confirmada por exame radiográfico (1 dente por paciente - 4 incisivos centrais superiores com histórico de fratura coronária e 4 pré-molares inferiores com histórico de dens evaginatus). O presente estudo clínico teve como objetivo realizar a terapia regenerativa endodôntica a partir da descontaminação passiva do canal e utilizando curativo de demora, com enfoque no comportamento das células envolvidas no processo regenerativo por meio de análises moleculares. Os dentes foram irrigados com 02 ml de hipoclorito de sódio 6%, seguido de 10ml de solução salina. Além disso, todos os dentes receberam medicação intracanal com pasta tripla antibiótica. Um mês depois, os dentes foram acessados novamente e irrigados com solução salina. O coágulo sanguíneo foi estimulado por meio de limas e coletado com pontas de papel absorvente. Os achados do estudo evidenciaram que há um acúmulo significativo de transcrições para os marcadores de células-tronco CD73 e CD105. Além disso, este efeito foi seletivo porque não houve mudança na expressão dos marcadores de diferenciação ALK-P, DSPP, ZBTB16 e CD14. As análises histológicas demonstraram que as células presentes expressavam tanto CD105 quanto STRO-1, marcadores para uma subpopulação de células-tronco mesenquimais. Assim, os autores concluíram que a etapa de estimular o sangramento nos procedimentos regenerativos desencadeia o acúmulo significativo de células-tronco indiferenciadas no espaço do canal onde essas células podem contribuir para a regeneração dos tecidos pulpaes observada após a descontaminação do dente imaturo com necrose pulpar.

Nagata et al. (2014) conduziram um estudo clínico com o objetivo de investigar os afeitos microbiológicos de dois protocolos de medicação intracanal em dentes submetidos ao PER. Quinze pacientes com idades entre 7 e 17 anos foram

submetidos ao PER utilizando dois tipos de medicação intracanal (pasta tripla antibiótico ou hidróxido de cálcio e clorexidina 2% gel). O protocolo de irrigação utilizado incluiu 20ml de hipoclorito de sódio 6%, 5ml de tiosulfato de sódio 5%, 10ml de clorexidina 2% líquida, a qual foi neutralizada por lecitina de soja 0,07% e tween 80. Os dentes permaneceram com a medicação intracanal por 3 semanas. Ao final, o sangramento no interior do canal foi provocado e os dentes foram selados com resina composta. As coletas microbiológicas foram realizadas por meio de cones de papel absorventes, e foram analisadas por meio de PCR em tempo real. Os autores concluíram que o perfil microbiano dos dentes imaturos infectados é semelhante ao dos dentes permanentes infectados principalmente. A maior redução bacteriana foi promovida pelas soluções de irrigação. Os protocolos de revascularização que utilizaram os medicamentos intracanal testados foram eficientes na redução de bactérias viáveis em dentes imaturos necróticos.

Outro estudo clínico que traz a importância da descontaminação do canal e o uso do curativo de demora para a terapia regenerativa é dos pesquisadores Miltiadous & Floratos (2015). Os autores ressaltam que a etapa primordial do tratamento é uma irrigação meticulosa com NaOCl para dar início a desinfecção do canal e na sequência a colocação da mistura de ciprofloxacina, metronidazol e minociclina no interior do canal. O estudo concluiu que a desinfecção do sistema de canais depende exclusivamente da irrigação e medicações intracanaís. As soluções irrigadoras utilizadas foram NaOCl 2,5% e EDTA 17%. Devido a maior biocompatibilidade e viabilizar a sobrevivência de células tronco, o EDTA tem sido sugerido como único irrigante para a regeneração da polpa em dentes com rizogênese incompleta em situação de necrose na segunda consulta - 89% de viabilidade celular, sendo com o NaOCl 74%.

De-Jesus-Soares et al. (2020) realizaram um estudo clínico e molecular com o objetivo de avaliar os níveis bacterianos após procedimentos endodônticos regenerativos e sua correlação com o resultado do tratamento usando métodos de microbiologia molecular. Amostras do canal radicular de 15 dentes imaturos necróticos foram analisadas por PCR. As bactérias foram coletadas antes do tratamento (S1), após irrigação com hipoclorito de sódio a 6% (S2), e após curativo intracanal (S3) usando pasta antibiótica tripla (n = 7) ou hidróxido de cálcio com clorexidina (n = 8). Após um período de acompanhamento de 12-48 meses, os achados clínicos e

radiográficos foram correlacionados com dados microbiológicos usando um modelo de regressão linear. Todas as amostras S1 e S2 foram positivas para bactérias, mas o número de amostras S3 positivas diminuiu para 53,3% ($P = .001$). Em geral, houve uma redução significativa dos níveis bacterianos após cada etapa de tratamento (S1-S2, $P = .001$; S2-S3, $P = .02$). Nos grupos de tripla pasta antibiótica e clorexidina, 57,1% e 50% das amostras de S3 foram positivas com números medianos de $6,97 \times 10^3$ e $3,59 \times 10^4$ de células bacterianas, respectivamente. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. A cura periapical ocorreu em todos os casos, apesar da presença de baixos níveis de bactérias residuais. Entretanto, esta última teve um impacto negativo sobre a espessura das paredes dentinárias. Os autores concluíram que embora os níveis bacterianos tenham sido drasticamente reduzidos após os procedimentos endodônticos regenerativos, as bactérias residuais influenciaram a espessura das paredes dentinárias.

Este recente estudo de Moura e colaboradores (2021) apresentou uma visão clínica da regeneração pulpar, abordando protocolos, vantagens e limitações. A base de dados foi realizada por busca eletrônica na Bireme e Pubmed utilizando os termos: *pulp revascularization*, *regenerative endodontics*, *regeneração*. Ao todo 18 artigos foram incluídos, sendo apenas relatos de caso, séries de casos e ensaios clínicos, pois satisfizeram os critérios de elegibilidade. O estudo concluiu que a maioria dos dentes submetidos a esse tipo de terapia são dentes em situação de rizogênese incompleta, em que a solução irrigadora é o NaOCl (a concentração depende do estudo ou procedimento clínico em questão), há administração de pasta tripla-antibiótica como medicação intracanal, são feitos com indução de coágulo, fazem uso do MTA como barreira coronal juntamente com cimento de ionômero de vidro, tendo resultado positivo da terapia imposta.

3.2 Efeitos dos protocolos de agitação na endodontia

Guo et al. (2014) testaram diferentes protocolos de agitação para avaliar quais sistemas são mais eficazes na limpeza do canal durante o preparo endodôntico. Cinquenta dentes unirradiculares foram separados em cinco grupos de forma aleatória ($n = 10$) de acordo com protocolos de agitação: um grupo de agulha com ventilação lateral, um grupo de irrigação ultrassônica (IU), um grupo NaviTip FX (tipo de cânula de irrigação com cerdas), um grupo EndoActivator (peça de mão com pontas ativas que agitam a solução irrigante) e um grupo de controle (sem agitação). As amostras

foram irrigadas com solução 3% NaOCl e 17% EDTA, analisadas estatisticamente e divididas em terços sendo: terço coronal, médio e apical. Os grupos controle, NaviTip FX e EndoActivator não obtiveram diferença significativa entre si, e ainda apresentaram valores inferiores quando comparados ao sistema do grupo IU ($P < 0,05$). Apesar de nenhum grupo se sobressair em relação a outro no quesito remoção de smear layer nos terços médios e apicais, foi observado que no terço coronal o grupo NaviTip FX obteve melhor remoção em relação ao sistema IU. No entanto, independentemente dos diferentes tipos de técnicas de irrigação aplicadas, a remoção completa da smear layer não foi alcançada, principalmente no terço apical. Ao final do ensaio foi concluído que até mesmo o sistema sem agitação obteve êxito parecido com os resultados do NaviTip FX ou EndoActivator na remoção da smear layer, ademais todos os protocolos foram igualmente em resultados quando analisado o terço apical, pois não removeram por completo a smear layer dessa região.

Em 2016 estudo realizado por Bao e colaboradores (2016) analisou a ação de diferentes protocolos de agitação no preparo do canal radicular e a penetração do irrigante nos túbulos dentinários, aliado a remoção de bactérias. Cinqüenta e quatro pré-molares unirradiculares extraídos foram divididos em 2 metades para que fosse possível realizar o cultivo bactérias em seus canais, após o período de cultivo (4 semanas) essas amostras foram novamente unidas e instrumentadas com limas Vortex Blue - 40/0,06. Por fim as amostras foram aleatoriamente dividida em 6 grupos ($n = 8$). Os métodos de irrigação também foram divididos em 2 grupos: um por irrigação contínua e outro por irrigação em 3 estágios. As técnicas de irrigação estudadas foram a agulha convencional (CNI), irrigação ultrassônica passiva (PUI) e XP-endo Finisher (XPF), esse último apresentou desempenho mais eficiente na remoção de biofilme tanto dentro quanto fora do sulco, em sequência ficaram PUI e CNI ($P < 0,05$). O XP-endo Finisher, como uma técnica de irrigação por agitação, facilita a eliminação de biofilme em áreas com maior dificuldade de se acessar no sistema de canais radiculares. O protocolo de irrigação em 3 momentos distintos se mostrou mais eficiente em relação a irrigação constante quando o XPF foi usado.

Duque et al. (2016) fez um comparativo em relação a eficiência do EasyClean (ação continuada ou recíprocante), irrigação ultrassônica passiva (PUI), sistemas Endoativador, e irrigação por agulha convencional na remoção de debris durante o preparo endodôntico de canais radiculares e istmos. 50 raízes mesiais de molares

inferiores foram seccionados a 2, 4 e 6 mm do ápice, instrumentadas e então separadas em 5 grupos (n=10). para aplicação do protocolo final de irrigação utilizando Easy Clean em rotação contínua, Easy Clean em movimento recíprocante, PUI, Endoativador e irrigação convencional. Foram obtidas imagens a partir do microscópio eletrônico de varredura em 4 momentos diferentes: após a instrumentação e após a 1ª, 2ª e 3ª agitação do irrigante e assim analisar a quantidade de debris excedente. Ao final do ensaio foi concluído que o protocolo de agitação em 3 etapas por 20 segundos realmente proporciona melhor limpeza do canal e istmo. Quando em relação a todas as técnicas testadas, atribuiu-se que o EasyClean em rotação contínua obteve uma melhor eficiência em comparação a irrigação por agulha convencional a 2mm ($P < 0,05$). Já a 4mm ($P < 0,05$) foi onde se notou a maior discrepância, em que o EasyClean em movimento contínuo foi mais competente que a irrigação convencional nas 3 etapas avaliadas. Por fim o PUI resultou em uma limpeza melhor do que a irrigação convencional a 6 mm ($P < 0,05$) e não se observou mudança estatística entre Easy Clean em rotação contínua, Easy Clean em movimento recíprocante e PUI ($P > 0,05$). As técnicas de agitação da solução irrigadora viabilizaram uma limpeza melhor do canal e istmo, especialmente o Easy Clean em rotação contínua. O protocolo de ativação do irrigante em 3 momentos diferentes por 20 segundos também otimizou a limpeza.

Susila & Minu (2019) investigaram a eficácia da agitação de irrigantes em comparação à irrigação convencional, por meio de uma revisão de literatura. As referências utilizadas foram retiradas do site PubMed e Cochrane. Os critérios de escolha foram ensaios clínicos in vivo em dentes adultos permanentes envolvendo um dispositivo de irrigação com agitação e um grupo controle de irrigação convencional. Participaram do estudo pacientes adultos que necessitavam de tratamento endodôntico em dentes. Ao final do estudo concluíram que a irrigação ativa da solução irrigadora otimizou o desbridamento e a limpeza do canal/istmo. Ademais, também propiciou que o irrigante chegasse a todo comprimento de trabalho. Pode-se concluir que os dispositivos mecânicos de irrigação ativa são benéficos na redução da dor pós-operatória e na melhora da limpeza do canal e do istmo durante o tratamento endodôntico.

Çapar İD & Aydinbelge HA (2014) realizaram um estudo em que avaliaram o conteúdo mineral (Ca, P, Mg e S) da dentina do canal radicular após o tratamento com

diferentes protocolos de ativação de irrigação. O estudo contou com 108 incisivos laterais superiores que foram divididos aleatoriamente em 8 grupos experimentais e 1 grupo controle. Foi utilizado 2mL de NaCl 5% a cada mudança no instrumento, além de receber irrigação ao final com 10 mL EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) 17% e 10 mL de NaOCl a 5% agitado por 60 segundos. No grupo controle a solução irrigadora foi água destilada. Grupo I: Irrigação com agulha; Grupo II: NaviTip FX; Grupo III: CanalBrush; Grupo IV: Ativação dinâmica manual com guta-percha; Grupo V (GV): Irrigação ultrassônica passiva; Grupo VI: EndoActivator; Grupo VII (GVII): EndoVac; Grupo VIII (GVIII): SAF. A análise final de imagem foi feita através do microscópio eletrônico de varredura e um sistema de espectrômetro de energia dispersiva (EDS). As alterações nos níveis de Ca, P, Mg e S não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$), e apenas a relação Ca/P obteve mudança após o tratamento com SAF e EndoActivator. Os autores concluíram que os protocolos de ativação de irrigação final não modificaram o grau de mineral da superfície da dentina radicular.

Aveiro et al. (2020) avaliaram a eficácia da ativação recíprocante e ultra-sônica do NaOCl a 6% na composição microbiana e redução da carga microbiana, bem como nos níveis de lipopolissacarídeo (LPS) e ácido lipoteico (LTA) nos dentes com infecções endodônticas primárias. Foram coletadas amostras de 24 canais radiculares com necrose de polpa e lesões periapicais, antes e depois do preparo do canal químico-mecânico. Os dentes foram divididos aleatoriamente de acordo com o protocolo de ativação da seguinte forma: grupo de controle sem ativação (WA, $n = 8$), grupo de ativação recíprocante usando ponta Easy Clean (EC, $n = 8$) e grupo de ativação ultra-sônica usando inserto Irrisonic (US, $n = 8$). Os espécimes microbiológicos foram processados usando métodos moleculares. Amostras de LPS e LTA foram detectados em 100% dos casos. A preparação químico-mecânica do canal diminuiu significativamente os níveis de LPS e LTA ($P < 0,05$), mas não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos ($P > 0,05$). Foram encontradas bactérias em 100% dos espécimes iniciais com concentrações entre $<10^5$ e 10^6 . Uma redução significativa ocorreu no Grupo US, seguida pelos Grupos EC e WA. Os autores concluíram que a ativação de NaOCl 6% reduziu os níveis de LPS e LTA, sem diferenças entre os grupos. Entretanto, a ativação ultra-sônica foi associada a uma maior redução na carga microbiana dentro dos canais radiculares.

3.3 Extrusão de Irrigantes após técnicas de agitação

Os estudos acerca dos diferentes métodos de irrigação e agitação durante o preparo endodôntico são vastos e de grande relevância na área da endodontia. Ao que se refere a dentes imaturos (rizogênese incompleta - ápice radicular ainda aberto) esse número não é dissemelhante, e levanta ainda mais questões a serem estudadas e observadas uma vez que essa condição pode levar a uma quantidade maior de extrusão de irrigantes e requer cuidados e técnicas distintas.

Aksel et al. (2014) tiveram como objetivo comparar a quantidade de extrusão de irrigantes em dentes permanentes imaturos simulados em diferentes diâmetros apicais e profundidades de inserção da agulha. Trinta incisivos maxilares foram incluídos. O comprimento da raiz foi padronizado para um comprimento de 9 mm. Os dentes foram divididos em dois grupos experimentais de acordo com o grau de diâmetro apical ($n = 15$). Os ápices foram alargados para um diâmetro de 1,10 mm ou 1,70 mm, usando uma broca de largo #3 ou #6, respectivamente, para simular dentes imaturos. A solução de irrigação foi aplicada 2 ou 4 mm abaixo do comprimento de trabalho (WL) em cada grupo experimental. Um frasco de vidro foi utilizado para a coleta de irrigante extruído. Os achados demonstraram que não houve diferença significativa entre as diferentes profundidades de inserção das agulhas (2 e 4 mm abaixo do WL) no grupo com um diâmetro apical de 1,70 mm ($p > 0,05$). No grupo com um diâmetro apical de 1,10 mm, foi observado um aumento de 32% na extrusão de irrigantes quando a agulha foi posicionada a 2 mm ($p < 0,05$). Quanto ao efeito do diâmetro apical, o grupo com um diâmetro de 1,70 mm mostrou mais extrusão apical do irrigante (aumento de 34% para a agulha posicionada a 2 mm e aumento de 68% para a agulha posicionada a 4 mm). Os autores concluíram que a profundidade de inserção da agulha e o diâmetro apical têm um efeito significativo na extrusão do irrigante em dentes permanentes imaturos.

Velmurugan e colaboradores (2014) realizaram um estudo para comparar a extrusão apical de NaOCl (3%) raízes imaturas usando EndoVac (sistema de irrigação em conjunto com sucção a vácuo) e irrigação por agulha convencional. Oitenta incisivos centrais superiores recém-extraídos e preparados de forma a simular um ápice aberto foram separados em quatro grupo ($n=20$): EndoVac Microcannula (grupo

I), EndoVac Macrocannula (grupo II), agulha de irrigação NaviTip (grupo III) e agulha de irrigação Max-i-Probe (grupo IV); o volume de irrigante utilizado foi de 9,0 ml por 60 segundos de maneira lenta. Ao final do experimento foi observado que a menor extrusão em dentes imaturos ocorreu no grupo II em que foi utilizado EndoVac Macrocannula, enquanto os demais grupos obtiveram 100% de extrusão ($p < 0,001$).

A partir de um estudo espectrofotométrico realizado em 2014, também a fim de avaliar a extrusão de NaOCl (5,25%) durante a irrigação no tratamento endodôntico, Rodriguez-Figueiroa et al. (2014) utilizaram 114 dentes monorradiculares (separados ainda em 54 raízes retas e 60 curvas) que foram padronizados para que todos tivessem 15mm em seu comprimento de raiz (para isso tiveram suas coroas retiradas). O estudo utilizou 3 métodos de irrigação: com agulha convencional, irrigação ultrassônica passiva (PUI) e EndoActivator (EA). Todas as técnicas obtiveram mínima extrusão, sendo que a maioria das amostras não obteve extrusão de NaOCl, cerca de 10-11% dos dentes extruíram um volume inferior a (1-3 μ L) nos 3 sistemas de irrigação. Ademais, ressaltam que não houve diferença estatística significativa entre usar a técnica PUI em canais retos ou curvos, o que difere de achados em estudos anteriores.

Jezersek et al. (2019) avaliaram uma técnica de irrigação com ativação a laser (Er:YAG - ítrio - alumínio dopado com érbio pulso duplo (AutoSWEEPS) e outro de 1 pulso supercurto (SSP), dentre os outros métodos estão agulha ponta aberta, agulha de lado ventilado. Ao final do estudo concluíram que a irrigação a laser (AutoSWEEPS) foi a que obteve consideravelmente uma menor quantidade de irrigante extrudado quando comparado ao método convencional por agulha de ponta aberta, essa foi a que mais teve material extrudado. O estudo foi realizado em canais simulados ($n=6$) que foram divididos em 2 grupos, o primeiro com método convencional por agulha foi testado com vazões diferentes, sendo 1, 2, 5 e 15 mL/min enquanto a técnica a laser obteve distintas energia de pulso 5, 10, 20, 30 e 40 mJ sendo a frequência de 10 Hz.

Nesser & Bshara (2019) realizaram um estudo de análise comparativa em relação a quantidade de gel e solução de NaOCl extravasada em dentes com rizogênese incompleta. Nesse estudo in vitro os pesquisadores utilizaram 30 pré-molares humanos imaturos recém-extraídos e separados em 2 grupos de acordo com o diâmetro do ápice: $\leq 2,5$ mm (grupo A) e $> 2,5$ mm (grupo B) previamente medidos.

Cada grupo foi irrigado com 5 mL de solução de NaOCl e 2 tipos comerciais diferentes de gel de NaOCl por 60 segundos e a extrusão da solução foi mensurada em um recipiente de plástico. Ao final do experimento foi concluído que houve mudança estatisticamente significativa entre a solução de NaOCl e o gel em amostras com o diâmetro apical de $\leq 2,5$ mm. Não houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,2$) entre a solução de NaOCl e o gel quando o diâmetro apical foi $> 2,5$ mm. Portanto devido a essa diferença relatada no primeiro caso, em que se tem diâmetro menor ou igual a 2,5mm concluíram que o gel de hipoclorito de sódio é mais seguro e recomendável do que a solução na irrigação de dentes imaturos com características dos dentes do grupo A.

Dos Reis et al. (2020) realizaram um estudo com objetivo de avaliar o volume de extrusão irrigante por diferentes técnicas de agitação final em modelos experimentais de dentes imaturos. Os autores utilizaram quinze raízes de pré-molares mandibulares com um comprimento de 14 mm e um ápice aberto simulado para formar 6 grupos, de acordo com a técnica de agitação final: grupo 1, pressão positiva e sem agitação; grupo 2, agitação ultra-sônica com Irrisonic; grupo 3, agitação ultra-sônica com Irrisonic Power; grupo 4, agitação mecânica com Easy Clean; grupo 5, agitação mecânica com XP-endo Finisher; e grupo 6, agitação sônica com Eddy (VDW, Munique, Alemanha). Um protótipo foi feito a partir de um tubo plástico Eppendorf preenchido com ágar para fixar o dente e coletar o irrigante extruído. A solução de contraste Ioditrast 76 (Justesa Imagen Mexicana, Tlalpan, México) foi usada para simular o irrigante. O volume do irrigante extruído em milímetros cúbicos foi calculado por meio de imagens tomográficas microcomputadas. Os autores concluíram que todas as técnicas causaram a extrusão de irrigantes. Os valores mais altos de extrusão ocorreram quando a agitação sônica foi realizada com o instrumento Eddy.

Em 2021, Takagi e colaboradores realizaram um estudo com o objetivo de analisar e comparar a extrusão de NaOCl através de meios distintos de irrigação em dentes bovinos que reproduziam rizogênese incompleta. Os métodos utilizados para o experimento foram irrigação convencional, ultrassônica passiva, XP-Endo Finisher e Easy Clean. Nesse estudo os autores chegaram à conclusão de que todos os métodos de irrigação apresentaram extrusão de NaOCl em quantidades semelhantes ($P > 0,05$). Portanto, segundo eles ao observarem esses diferentes protocolos,

aferiram que todos podem ser considerados durante o tratamento endodôntico de dentes imaturos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento da pesquisa

Trata-se de uma pesquisa experimental *in vitro*. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (CEP-FOP), da Universidade Estadual de Campinas, sob o CAAE: 63233522.3.0000.5418.

4.2 Seleção e preparo dos espécimes para simulação de dentes com rizogênese incompleta

4.2.1 Tamanho amostral

Para esse desfecho, utilizamos os resultados de um estudo anterior, com metodologia semelhante (Azim et al., 2018). O cálculo foi feito no software G*Power v. 31 (<http://www.psychologie.hhu.de/arbeitsgruppen/allgemeine-psychologie-und-arbeitspsychologie/gpower>) para Windows. Para o cálculo, selecionamos o teste *a priori* ANOVA one-way (opção *F test family*). O tamanho de efeito utilizado foi 0.670, erro tipo I (alfa) de 0.05, erro tipo II (beta) de 0.99. Dessa forma, foram necessários 15 espécimes por subgrupo de alocação, totalizando 45 espécimes.

4.2.2 Obtenção, armazenagem e seleção dos espécimes

Nesse estudo foram utilizadas, ao todo, 45 raízes de dentes humanos unirradiculares, de pessoas entre 18 e 50 anos de ambos os sexos, preparados a modo de simular dentes com rizogênese incompleta. Os dentes utilizados no estudo foram coletados em clínicas odontológicas particulares através de doação por profissionais graduados em odontologia. Os exames clínico e radiográfico, a indicação e orientação do procedimento cirúrgico ficaram a responsabilidade dos profissionais envolvidos. Os critérios de inclusão utilizados para seleção dos dentes foram os seguintes: Não possuir tratamento endodôntico prévio, não apresentar cárie radicular, e com comprimento radicular de pelo menos 12mm. Radiografias digitais (Apixia PSP Scanner, California, EUA / Aparelho Raio X – Timex 70C – Gnatus, Ribeirão Preto, São Paulo) foram realizadas no sentido vestibulo-palatino e méso-distal para confirmar a presença de um único canal radicular. Os dentes foram avaliados por um único examinador. As raízes que apresentarem curvatura acentuada, fissuras, fraturas ou calcificação radiculares, ou que sejam terceiros molares foram excluídas do estudo.

4.2.3 Preparo dos espécimes

Os espécimes foram fixados em uma placa de acrílico e seccionados com uma cortadora de precisão (ISOMET, Buhler, Ltd. Lake Buff, NY, EUA) com disco diamantado ($\varnothing$ 125 mm x 0,35 mm x 12,7 mm) sob irrigação contínua. As coroas foram removidas com um corte perpendicular ao longo eixo do dente, 2mm abaixo da junção cimento-esmalte (Figura 1). Posteriormente, um segundo corte foi realizado um ponto 7 mm do primeiro corte, padronizando o comprimento radicular em aproximadamente 7 mm. A remoção da região apical teve por objetivo padronizar o comprimento dos espécimes, removendo-se possíveis ramificações e deltas apicais. As raízes foram armazenadas em solução salina tamponada com fosfato estéril (PBS 1x) com pH 7,4, sob refrigeração a 5°C, onde permaneceram até a realização do preparo dos canais.

O preparo dos canais para simular um dente com rizogênese incompleta seguiu o modelo proposto por um estudo prévio (Dos Reis et al., 2020), de forma adaptada. Sob constante irrigação com solução salina 0,9%, os canais radiculares dos dentes foram preparados em toda extensão com uso de limas manuais do tipo K #15-40 (Dentsply, Ballaigues, Suíça) e reciprocantes R50 (Reciproc®, VDW, Munique, Alemanha) no sentido coroa-ápice, e retropreparadas com limas rotatória de Tip 30 e Taper 10 (ProDesign S®, Easy Equipamentos Odontológicos, Belo Horizonte, Brasil) (Figura 1), até que se obteve um ápice aberto de 1 mm de diâmetro, que foi confirmado com a passagem de uma lima 100 do tipo K. Esse diâmetro foraminal foi definido seguindo o estudo de Fang et al. (2018), que observou que o tamanho crítico do forame apical para o sucesso da endodontia regenerativa é de pelo menos 1mm, e que vem sendo padronizado em outros estudos laboratoriais em dentes com rizogênese incompleta. O canal possuía uma forma semelhante ao de dentes com rizogênese incompleta, onde os terços cervicais e apicais possuem diâmetros maiores que o terço médio (Figura 1). Esta etapa teve como objetivo a padronização do formato dos canais para simular dentes com rizogênese incompleta e para que um volume similar de solução química irrigadora entrasse em contato com as paredes dos canais de todos os espécimes durante todas as etapas experimentais. Após o preparo, as raízes foram armazenadas em solução salina tamponada com fosfato estéril (PBS 1x) com pH 7,4, sob refrigeração a 5°C até o momento dos experimentos.

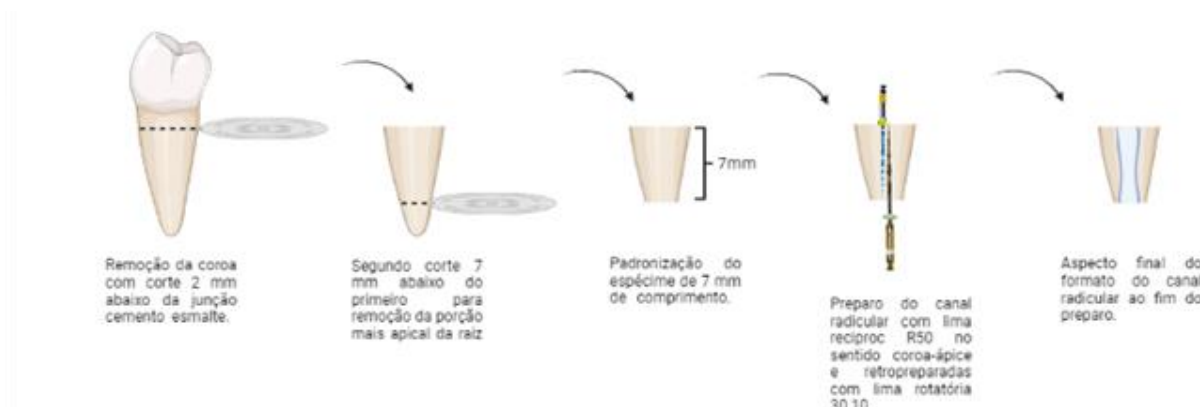


Figura 1. Processo de preparo dos espécimes e dos canais radiculares para simulação de dentes com ápice aberto. Imagem criada em BioRender.com.

4.3 Grupos experimentais, protocolos de irrigação e agitação das soluções irrigadoras

Os espécimes foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais de acordo com a técnica de agitação a ser utilizada: Grupo 1 (G1): Sem agitação; Grupo 2 (G2): Agitação Ultrassônica Passiva; Grupo 3 (G3): Agitação com EasyClean.

Todos os procedimentos de irrigação foram realizados com o auxílio de seringa descartável de 5ml e agulha hipodérmica 24 G (0,55x20mm) (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, Estados Unidos) posicionada 2 mm aquém do ápice, como preconizado pela Associação Americana de Endodontia (2018). O Hipoclorito de sódio foi irrigado em um fluxo constante aproximado de 0.06 ml/s (aproximadamente 20 ml durante 5 minutos, ou 18.5 ml durante 4,30 minutos). Simultaneamente, a aspiração das soluções irrigadoras foi feita com uma cânula metálica estéril associada a uma Capillary Tip (0.014mm de diâmetro) acoplada a uma bomba de sucção à vácuo e posicionada na embocadura do canal radicular durante todo o processo de irrigação.

Os protocolos de agitação utilizados foram:

- Agitação ultrassônica: foi feito por meio do ultrassom Satelec Booster® (Acteon, Indaiatuba, SP, Brasil) e pontas Irrisonic® (Helse Ultrasonic, Ribeirão Preto, SP, Brasil) posicionadas 2 mm aquém do ápice, e acionadas na potência de 10% (Teves et al., 2021). Uma irrigação inicial contínua com seringa utilizando 18.5ml de NaOCl foi realizada, a seguir 0.5 ml de NaOCl foi agitado no interior do canal radicular por 20s, por três ciclos (com renovação completa da substância química a cada ciclo)

(Aveiro et al., 2020) – totalizando 1.5 ml de NaOCl agitados, em um total de um minuto de agitação (Figura 2).

- Agitação com EasyClean: Esse grupo recebeu tratamento semelhante ao da agitação ultrassônica, porém, as substâncias irrigadoras foram agitadas com o instrumento EasyClean acoplado a um motor endodôntico (X-Smart Plus, Dentsply, Munique, Alemanha), na função Wave One (170° no sentido anti-horário e 50° no sentido horário), posicionado 2mm aquém do ápice.



Figura 2. Esquema dos protocolos de agitação dos grupos experimentais. Imagem criada em BioRender.com.

4.4 Avaliação da extrusão apical de solução irrigadora

4.4.1 Aparato para coleta de irrigante extruído

O aparato para coleta do irrigante extruído foi confeccionado com base em um artigo prévio, de forma adaptada (Azim et al., 2018). Inicialmente, os espécimes tiveram sua superfície externa coberta com esmalte de unha, para garantir que não ocorresse extravasamento de substância irrigadora por canais laterais. A seguir, uma camada de 0.5 mm de espessura de TopDam (FGM, Joinville, SC, Brasil) foi posicionada, externamente, no ápice de cada espécime, para criar uma área de coleta do irrigante extruído. Após esta etapa, os espécimes foram moldados em silicona de condensação hidrofóbica (Azim et al., 2018) (Speedex, Vigodent-Coltene, Rio de Janeiro, Brasil), de modo que esta simulasse a resistência apical e coletasse a solução irrigadora extravasada. Após a moldagem, o TopDam apical foi removido e os espécimes foram inseridos novamente na silicona e fixados com auxílio de TopDam. A seguir, o conjunto formado pelo material de moldagem e espécime foi fixado no

interior de um tubo de eppendorf de 1.5ml (Figura 3). Para padronizar e estabilizar a posição dos tubos no momento dos experimentos, eles foram fixados no interior de uma ampola de vidro.

A seguir, os espécimes foram distribuídos aleatoriamente nos grupos experimentais e ao final do processo de irrigação e agitação descritos no tópico 4.3, os espécimes foram retirados da silicona. O irrigante extruído utilizado para análise foi aquele presente na silicona de condensação após remoção do espécime.

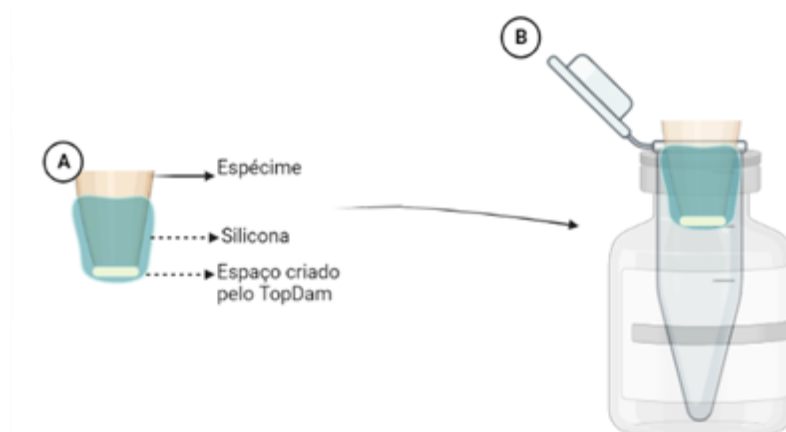


Figura 3. Aparato utilizado para coleta do irrigante extruído. Imagem criada em BioRender.com.

4.4.2 Análise em espectrofotômetro do volume de irrigante extruído

Para quantificar o NaOCl extruído, inicialmente foi necessário a elaboração de uma curva padrão com quantidades conhecidas de NaOCl (0-30 μ L) que foram levadas para o espectrofotômetro (ELx808; BioTek, Áustria) para ler os resultados a 590 nm. O volume de NaOCl foi calculado de acordo com os respectivos valores de absorbância e usando regressão linear. A curva padrão foi calculada previamente, no mesmo dia de leitura dos experimentos.

Para avaliar a extrusão apical de NaOCl, esse projeto seguiu a metodologia realizada por Rodriguez-Figueroa et al. (2014), de forma adaptada. Inicialmente, 100ul de água deionizada foi inserida em cada meio de coleta (moldagem de silicone) e mixada com o NaOCl extruído. A seguir, todo o conteúdo foi transportado, com auxílio de uma pipeta, para um tubo de eppendorf contendo 900 ul de água deionizada, e então mixados com auxílio de um vortex. A partir disto, 10 μ L de cada amostra foi pipetada em uma placa de 96 poços (Costar, Nova Iorque, NY, EUA) contendo 160

μ L de púrpura de m-cresol (0,1%, pH = 9) (Quimlab Produtos de Química Fina Ltda, SP, Brasil). As amostras foram misturadas em um agitador de placas e lidas por espectrofotômetro (filtro= 590 nm). A quantidade de NaOCl extruído foi descrita em μ L. A análise de cada amostra foi realizada em duplicata.

4.5 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada no software Prism 8.0 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA). A normalidade dos dados foi analisada por meio do teste Shapiro-Wilk. Como os dados apresentaram-se normais, utilizou-se o teste ANOVA para comparar o volume de extrusão apical de irrigante entre os grupos experimentais, com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

Todos os dentes apresentaram extrusão mínima de NaOCl. Com base no teste ANOVA, os volumes médios de NaOCl extruídos não diferiram entre um ou mais dos grupos de teste ($F(2, 42) = 1.189$, $p = 0,346$) (Figura 4). O grupo ultrassom teve o maior volume extruído - $6,34 \pm 1,8 \mu\text{L}$ (média $\pm$ SD), seguido por irrigação convencional por seringa ($5,36 \pm 1,8 \mu\text{L}$) e EasyClean ($5,34 \pm 2,24 \mu\text{L}$).

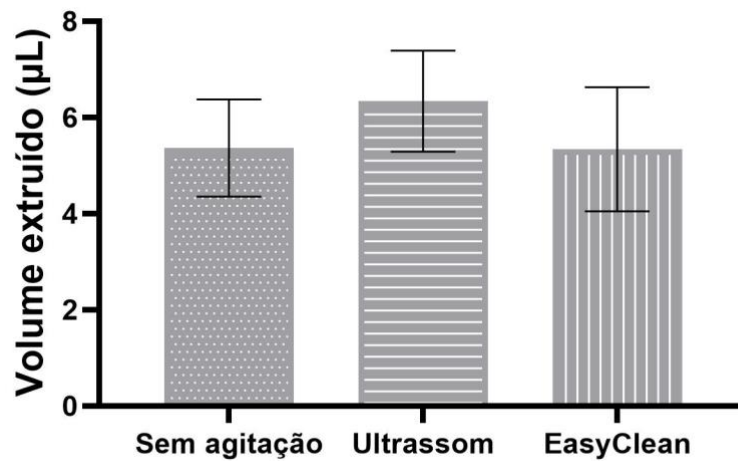


Figura 4. Resultado estatístico da extrusão apical de NaOCl de acordo com cada grupo experimental.

6 DISCUSSÃO

A extrusão apical de NaOCl é um acidente severo durante a prática endodôntica, e seus desfechos são extensamente descritos na literatura (Guivarc'h et al., 2017; Kanagasingam et al. 2020). Alguns autores observaram que o diâmetro do forame apical pode ser um fator de risco para o extravasamento do irrigante, tornando a irrigação uma etapa delicada da descontaminação passiva (Aksel et al. 2014; Susila et al. 2019). No presente estudo, todas as amostras apresentaram extravasamento apical de NaOCl, independentemente do método de agitação. Esse resultado está de acordo com o descrito em estudos prévios que utilizaram modelos ex vivo de dentes imaturos simulados (dos Reis et al. 2020; Takagi et al. 2021).

Foi observado também que não houve influência das técnicas de agitação em relação ao volume de irrigante extruído, além de não ter diferença estatística significativa quando comparadas a irrigação convencional com seringa. O que novamente está de acordo com a literatura (dos Reis et al. 2020; Takagi et al. 2021). Uma justificativa para essa similaridade é o posicionamento de todos os equipamentos a 2 mm do forame apical, o que pode diminuir o volume da extrusão (Boutsioukis et al. 2014); além disso, um estudo anterior observou-se que os métodos de agitação podem gerar uma pressão apical similar à da irrigação convencional, o que pode ocasionar em um volume de extrusão parecido (Magni et al. 2021).

Para a mensuração do volume de irrigante extruído, foi utilizado um método de análise espectrofotométrica em conjunto a um indicador sensível à mudança de pH. Essa metodologia foi primeiramente descrita por Rodriguez-Figueroa et al. (2014), no entanto o presente estudo modificou algumas etapas para que fosse possível obter resultados quantitativos confiáveis e reproduzíveis. Primeiro, nos nossos testes pilotos foi observado que ao utilizar a púrpura de m-cresol em pH 7, a alteração de cor de amarelo para a púrpura após interação com o NaOCl em pH 11 levou a uma leitura irregular das absorbâncias no espectrofotômetro, o que não viabilizou a elaboração de uma curva padronizada. A partir disso foi estabelecido o uso da púrpura de m-cresol em pH 9 para que assim as mudanças do espectro de cor com a presença de volumes conhecidos de NaOCl (0 - 30 µL) tivessem um padrão linear adequado para formação da curva de análise espectrofotométrica. Outro ajuste na metodologia foi a dissolução do hipoclorito de sódio em água deionizada previamente ao contato com o

m-cresol, pois esse ajuste propiciou estabilidade sem que houvesse interferência na sensibilidade à mudança de pH. Isso porque no estudo de Rodriguez-Figueiroa et al. (2014), os autores transferiram o NaOCl extruído diretamente para os poços contendo 170µL de m-cresol; neste presente estudo, durante o teste piloto, foi observado que houve descoloração e redução dos valores de absorbância do m-cresol de forma progressiva conforme o tempo passava, isso provavelmente resultado de uma instabilidade da reação. Para superar esse problema, observamos que ao diluir o NaOCl com 1mL de água destilada e transferir essa mistura para os poços contendo 160µL de m-cresol, a reação apresentou estabilidade adequada para leitura no espectrofotômetro.

Outro aspecto metodológico na avaliação do irrigante extruído é o uso de um modelo de alvéolo artificial confeccionado em silicone hidrofóbico. Essa metodologia foi proposta por Azim et al. (2018), e se mostrou eficaz na coleta de NaOCl extruído para posterior leitura no espectrofotômetro. Além de servir como meio de coleta, o alvéolo artificial também tem como objetivo simular a resistência dos tecidos periapicais ao extravasamento. Contudo, não é possível afirmar se o limiar de pressão necessária para causar extravasamento nesse modelo é o mesmo do dos tecidos periapicais, o que pode ser interpretado como uma limitação dessa metodologia.

7 CONCLUSÃO

Dentro das limitações do presente estudo, pode-se concluir que a agitação do NaOCL 1.5% por ultrassom ou EasyClean não promoveu maior extrusão apical de irrigante quando comparado à irrigação convencional por seringa em dentes imaturos simulados.

8 REFERÊNCIAS¹

1. American Association of Endodontists (AAE). AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure, 2018.
2. Kahler B, Rossi-Fedele G, Chugal N, Lin LM. An Evidence-based Review of the Efficacy of Treatment Approaches for Immature Permanent Teeth with Pulp Necrosis. *J Endod*. 2017 Jul;43(7):1052-1057. doi: 10.1016/j.joen.2017.03.003.
3. Fouad AF. Contemporary Microbial and Antimicrobial Considerations in Regenerative Endodontic Therapy. *J Endod*. 2020 Sep;46(9S):S105-S114.
4. Gomes BPFA, Herrera DR. Etiologic role of root canal infection in apical periodontitis and its relationship with clinical symptomatology. *Braz Oral Res*. 2018 Oct 18;32(suppl 1):e69.
5. Nagata JY, Soares AJ, Souza-Filho FJ, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JF, Gomes BP. Microbial evaluation of traumatized teeth treated with triple antibiotic paste or calcium hydroxide with 2% chlorhexidine gel in pulp revascularization. *J Endod*. 2014 Jun;40(6):778-83.
6. de-Jesus-Soares A, Prado MC, Nardello LCL, Pereira AC, Cerqueira-Neto ACCL, Nagata JY, Martinez EF, Frozoni M, Gomes BPFA, Pinheiro ET. Clinical and Molecular Microbiological Evaluation of Regenerative Endodontic Procedures in Immature Permanent Teeth. *J Endod*. 2020 Oct;46(10):1448-1454.
7. Vishwanat L, Duong R, Takimoto K, Phillips L, Espitia CO, Diogenes A, Ruparel SB, Kolodrubetz D, Ruparel NB. Effect of Bacterial Biofilm on the Osteogenic Differentiation of Stem Cells of Apical Papilla. *J Endod*. 2017 Jun;43(6):916-922.
8. Ruksakiet K, Hanák L, Farkas N, Hegyi P, Sadaeng W, Czumbel LM, Sang-Ngoen T, Garami A, Mikó A, Varga G, Lohinai Z. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root Canal Disinfection: A Systematic Review and

- Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *J Endod*. 2020 Aug;46(8):1032-1041.e7.
9. Cerqueira-Neto ACCL, Prado MC, Pereira AC, Oliveira ML, Vargas-Neto J, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Almeida JFA, de-Jesus-Soares A. Clinical and Radiographic Outcomes of Regenerative Endodontic Procedures in Traumatized Immature Permanent Teeth: Inter-appointment dressing or Single-Visit? *J Endod*. 2021 Jul 23:S0099-2399(21)00518-5.
 10. Cheung AWT, Lee AHC, Cheung GSP. Clinical efficacy of activated irrigation in endodontics: a focused review. *Restor Dent Endod*. 2021 Jan 26;46(1):e10
 11. van der Sluis LW, Wu MK, Wesselink PR. A comparison between a smooth wire and a K-file in removing artificially placed dentine debris from root canals in resin blocks during ultrasonic irrigation. *Int Endod J*. 2005;38(9):593-596. doi:10.1111/j.1365-2591.2005.00921.x
 12. Teves A, Blanco D, Casaretto M, Torres J, Alvarado DE, Coaguila-Llerena H, Faria G, Jaramillo DE. Multispecies biofilm removal by XP-endo Finisher and passive ultrasonic irrigation: A scanning electron microscopy study. *Aust Endod J*. 2022 Apr;48(1):91-97.
 13. Aveiro E, Chiarelli-Neto VM, de-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Marciano MA, Feres M, Gomes BPFA. Efficacy of reciprocating and ultrasonic activation of 6% sodium hypochlorite in the reduction of microbial content and virulence factors in teeth with primary endodontic infection. *Int Endod J*. 2020 May;53(5):604-618
 14. Aksel H, Askerbeyli S, Canbazoglu C, Serper A. Effect of needle insertion depth and apical diameter on irrigant extrusion in simulated immature permanent teeth. *Braz Oral Res*. 2014;28:1-6. doi: 10.1590/1807-3107bor-2014.vol28.0053.
 15. Takagi BAR, Kopper PMP, Luz L, Luisi SB, Scarparo RK. Apical extrusion of sodium hypochlorite in immature teeth: comparison of three different cleaning protocols. *Aust Endod J*. 2021 Oct 7. doi: 10.1111/aej.12574.
 16. Sharma R, Kumar V, Logani A, Chawla A, Sharma S, Koli B. Effect of Gravity on Periapical Extrusion of Irrigating Solution With Different Irrigation Protocols in

- Immature Anterior Teeth. *Eur Endod J*. 2020 May 14;5(2):150-154. doi: 10.14744/eej.2020.20592.
17. Dos Reis S, Cruz VM, Hungaro Duarte MA, da Silveira Bueno CE, Vivan RR, Pelegrine RA, Bruno KF, Kato AS. Volumetric Analysis of Irrigant Extrusion in Immature Teeth after Different Final Agitation Techniques. *J Endod*. 2020 May;46(5):682-687.
 18. Jamleh A, Fukumoto Y, Takatomo Y, Kobayashi C, Suda H, Adorno CG. A comparison between two negative pressure irrigation techniques in simulated immature tooth: an ex vivo study. *Clin Oral Investig*. 2016 Jan;20(1):125-31. doi: 10.1007/s00784-015-1489-1.
 19. Azim AA, Aksel H, Margaret Jefferson M, Huang GT. Comparison of sodium hypochlorite extrusion by five irrigation systems using an artificial root socket model and a quantitative chemical method. *Clin Oral Investig*. 2018 Mar;22(2):1055-1061.
 20. Fang Y, Wang X, Zhu J, Su C, Yang Y, Meng L. Influence of Apical Diameter on the Outcome of Regenerative Endodontic Treatment in Teeth with Pulp Necrosis: A Review. *J Endod*. 2018 Mar;44(3):414-431.
 21. Rodríguez-Figueroa C, McClanahan SB, Bowles WR. Spectrophotometric determination of irrigant extrusion using passive ultrasonic irrigation, EndoActivator, or syringe irrigation. *J Endod*. 2014;40(10):1622-1626. doi:10.1016/j.joen.2014.03.017
 22. Jezeršek M, Jereb T, Lukač N, Tenyi A, Lukač M, Fidler A. Evaluation of Apical Extrusion During Novel Er:YAG Laser-Activated Irrigation Modality. *Photobiomodul Photomed Laser Surg*. 2019 Sep;37(9):544-550. doi: 10.1089/photob.2018.4608.
 23. Velmurugan N, Sooriaprakas C, Jain P. Apical Extrusion of Irrigants in Immature Permanent Teeth by Using EndoVac and Needle Irrigation: An In Vitro Study. *J Dent (Tehran)*. 2014 Jul;11(4):433-9.
 24. Nesser SFA, Bshara NG. Evaluation of the apical extrusion of sodium hypochlorite gel in immature permanent teeth: An in vitro study. *Dent Med Probl*. 2019 Apr-Jun;56(2):149-153. doi: 10.17219/dmp/103911.

25. Guo X, Miao H, Li L, Zhang S, Zhou D, Lu Y, Wu L. Efficacy of four different irrigation techniques combined with 60 °C 3% sodium hypochlorite and 17% EDTA in smear layer removal. *BMC Oral Health*. 2014 Sep 8;14:114. doi: 10.1186/1472-6831-14-114.
26. Bao P, Shen Y, Lin J, Haapasalo M. In Vitro Efficacy of XP-endo Finisher with 2 Different Protocols on Biofilm Removal from Apical Root Canals. *J Endod*. 2017 Feb;43(2):321-325. doi: 10.1016/j.joen.2016.09.021.
27. Kanagasingam S, Blum IR. Sodium Hypochlorite Extrusion Accidents: Management and Medico-Legal Considerations. *Prim Dent J*. 2020 Dec;9(4):59-63. doi: 10.1177/2050168420963308.
28. Guivarc'h M, Ordioni U, Ahmed HM, Cohen S, Catherine JH, Bukiet F. Sodium Hypochlorite Accident: A Systematic Review. *J Endod*. 2017 Jan;43(1):16-24. doi: 10.1016/j.joen.2016.09.023.
29. Magni E, Jäggi M, Eggmann F, Weiger R, Connert T. Apical pressures generated by several canal irrigation methods: A laboratory study in a maxillary central incisor with an open apex. *Int Endod J*. 2021 Oct;54(10):1937-1947. doi: 10.1111/iej.13575.
30. Boutsoukis C, Psimma Z, Kastrinakis E. The effect of flow rate and agitation technique on irrigant extrusion ex vivo. *Int Endod J*. 2014 May;47(5):487-96. doi: 10.1111/iej.12176.
31. Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol*. 2001 Aug;17(4):185-7.
32. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod*. 2004 Apr;30(4):196-200.
33. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod*. 2011 Feb;37(2):133-8.
34. Miltiados ME, Floratos SG. Regenerative Endodontic Treatment as a Retreatment Option for a Tooth with Open Apex - A Case Report. *Braz Dent J*. 2015 Oct;26(5):552-6.

35. Moura, R. Q. de, Brandt, L. M. T., Toscano, R. L., Gomes, D. Q. de C., & Santos, K. S. A. dos. (2021). Pulp Regeneration: a Clinic Challenge. *ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION*, 11(2), 260–265. <https://doi.org/10.21270/archi.v11i2.5411>
36. Duque JA, Duarte MA, Canali LC, Zancan RF, Vivan RR, Bernardes RA, Bramante CM. Comparative Effectiveness of New Mechanical Irrigant Agitating Devices for Debris Removal from the Canal and Isthmus of Mesial Roots of Mandibular Molars. *J Endod*. 2017 Feb;43(2):326-331. doi: 10.1016/j.joen.2016.10.009.
37. Çapar İD, Aydinbelge HA. Effectiveness of various irrigation activation protocols and the self-adjusting file system on smear layer and debris removal. *Scanning*. 2014 Nov-Dec;36(6):640-7. doi: 10.1002/sca.21171.
38. Susila A, Minu J. Activated Irrigation vs. Conventional non-activated Irrigation in Endodontics - A Systematic Review. *Eur Endod J*. 2019 Nov 25;4(3):96-110. doi: 10.14744/eej.2019.80774.

9 ANEXOS

Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio

EFEITO IN VITRO DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE AGITAÇÃO NA EXTRUSÃO APICAL DE IRRIGANTES EM DENTES COM RIZOGÊNESE INCOMPLETA SIMULADA: UMA ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA

RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE

8%	8%	1%	2%
ÍNDICE DE SEMELHANÇA	FONTES DA INTERNET	PUBLICAÇÕES	DOCUMENTOS DOS ALUNOS
FONTES PRIMÁRIAS			
1	Submitted to Universidade Estadual de Campinas Documento do Aluno		2%
2	www.teses.usp.br Fonte da Internet		1%
3	repositorio.ufjf.br Fonte da Internet		1%
4	archhealthinvestigation.emnuvens.com.br Fonte da Internet		1%
5	www.ciodonto.edu.br Fonte da Internet		1%
6	idoc.pub Fonte da Internet		1%
7	repositorio.unicamp.br Fonte da Internet		1%
	repositorio.ufpb.br		

Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa

	UNICAMP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNIVERSIDADE DE CAMPINAS - FOP/UNICAMP	
--	---	--

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de efeitos físicos e químicos de diferentes técnicas de irrigação como proposta para protocolos de descontaminação passiva na endodontia regenerativa

Pesquisador: Walbert de Andrade Vieira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 63233522.3.0000.5418

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

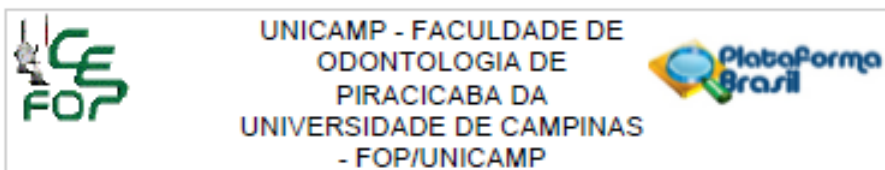
Número do Parecer: 5.692.311

Apresentação do Projeto:

O parecer inicial é elaborado com base na transcrição editada do conteúdo do registro do protocolo na Plataforma Brasil e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil. Os pareceres de retorno, emendas e notificações são elaborados a partir do último parecer e dos dados e arquivos da última versão apresentada. A EQUIPE DE PESQUISA citada na capa do projeto de pesquisa inclui WALBERT DE ANDRADE VIEIRA (Cirurgião-dentista, Doutorando no PPG em Clínica Odontológica, área de concentração em Endodontia, da FOP/UNICAMP, Pesquisador responsável, Orientando), ADRIANA DE JESUS SOARES (Cirurgião-dentista, Professora Livre Docente do Departamento de Odontologia Restauradora da FOP/UNICAMP, Orientadora), LAURA PRISCILLA AMPARO GONÇALVES (Graduanda no curso de Odontologia da FOP/UNICAMP), o que é confirmado na declaração dos pesquisadores e na PB.

DELINEAMENTO DA PESQUISA: Trata-se de estudo experimental *in vitro* que envolverá 68 dentes incisivos humanos obtidos por doação de uma dentista. **Objetivo:** Avaliar *in vitro* o uso de diferentes técnicas de agitação de soluções irrigadoras como proposta para descontaminação passiva em procedimentos endodônticos regenerativos de dentes com rizogênese incompleta

Endereço: Av. Limeira 901 Caixa Postal 52		CEP: 13.414-903
Bairro: Areião		
UF: SP	Município: PIRACICABA	
Telefone: (19)2106-5349	Fax: (19)2106-5349	E-mail: cep@fop.unicamp.br



Continuação do Processo: 5.692.311

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PIRACICABA, 09 de Outubro de 2022

Assinado por:
Jacks Jorge Junior
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião CEP: 13.414-903
UF: SP Município: PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 Fax: (19)2106-5349 E-mail: cep@fop.unicamp.br

Anexo 3 – Iniciação Científica



Universidade Estadual de Campinas
Pré-Reitoria de Pesquisa
Programas de Iniciação Científica e Tecnológica
www.prp.unicamp.br | Tel. 55 19 3521-4891

Declaração

Declaro para os devidos fins, que o(a) aluno(a) **LAURA PRISCILLA AMPARO GONÇALVES**, RA 219919, é bolsista junto ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica nas Ações Afirmativas - PIBIC-AF/CNPq, com bolsa vigente no período de **01/09/2022 a 31/08/2023**, sob a orientação do(a) Prof(a). Dr(a). **ADRIANA DE JESUS SOARES** (FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA - FOP, UNICAMP) para o desenvolvimento do Projeto *"Efeito in vitro de diferentes protocolos de agitação na extrusão apical de irrigante em dentes com rizogênese incompleta simulada: Uma análise espectrofotométrica"*.

Pré-Reitoria de Pesquisa, 29 de novembro de 2022.

Marcos Yakuwa Mekarú

PR ASS ADMINISTRATIVOS / TÉCNICO EM
ADMINISTRAÇÃO
(Assinatura Digital em anexo)

Documento assinado. Verificar autenticidade em sigad.unicamp.br/verifica
Informar código 581A9619 5A2B4E86 A8645880 33968428

Documento assinado eletronicamente por **Marcos Yakuwa Mekarú**, PR ASS ADMINISTRATIVOS / TÉCNICO EM ADMINISTRAÇÃO, em 29/11/2022, às 14:15 horas, conforme Art. 10 § 2º da MP 2.200/2001 e Art. 1º da Resolução GR 54/2017.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site:
sigad.unicamp.br/verifica, informando o código verificador:
581A9619 5A2B4E86 A8645880 33968428

