



UNIVERSIDADE EVANGÉLICA DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Luan Carlos Gomes Teixeira

**Análise comparativa de diferentes protocolos de sanificação na
redução bacteriana em molares inferiores infectados por
*Enterococcus faecalis***

Anápolis - GO
2022

Luan Carlos Gomes Teixeira

**Análise comparativa de diferentes protocolos de sanificação na
redução bacteriana em molares inferiores infectados por
*Enterococcus faecalis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA para obtenção do Título de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Clínica Odontológica.
Orientação: Prof. Dr. Helder Fernandes de Oliveira

Anápolis - GO

2022

Ficha Catalográfica

T266

Teixeira, Luan Carlos Gomes.

Análise Comparativa de diferentes protocolos de sanificação na redução bacteriana em molares inferiores infectados por *Enterococcus faecalis*. / Luan Carlos Gomes Teixeira - Anápolis: Universidade Evangélica de Goiás, 2022.
41 p.; il.

Orientador: Prof^o. Dr. Helder Fernandes de Oliveira.

Dissertação (mestrado) – Programa de pós - graduação em Odontologia – Universidade Evangélica de Goiás, 2022.

1. Preparo de Canal Radicular 2. *Enterococcus faecalis* 3. Biofilme 4. Hipoclorito de sódio 5. Hidróxido de cálcio I. Oliveira, Helder Fernandes de. III. Título.

CDU 616.314

Catálogo na Fonte

Elaborado por Hellen Lisboa de Souza CRB1/1570

FOLHA DE APROVAÇÃO

**ANÁLISE COMPARATIVA DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE SANIFICAÇÃO NA
REDUÇÃO BACTERIANA EM MOLARES INFERIORES INFECTADOS POR
ENTEROCOCCUS FAECALIS**

Luan Carlos Gomes Teixeira

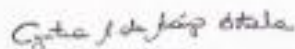
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia - PPGO da Universidade Evangélica de Goiás - UniEVANGÉLICA como requisito parcial à obtenção do grau de MESTRE.

Aprovado em 25 de fevereiro de 2022.

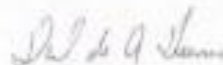
Banca examinadora



Prof. Dr. Hélder Fernandes de Oliveira



Profa. Dra. Cynthia Rodrigues de Araújo Estrela



Prof. Dr. Daniel de Almeida Decurcio

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Dilmar Teixeira e Kenia Cristina Gomes Teixeira, por sempre acreditarem em mim e por terem abdicado de grande parte de suas vidas em prol da felicidade e da vida de seus dois filhos.

Ao meu irmão Luiz Paulo Gomes Teixeira, por sua preocupação, carinho e amizade em todos os momentos.

À minha amada noiva Ana Paula Gomes Ribeiro Borges, por todo amor, incentivo, apoio e compreensão.

Nada disso teria sentido se vocês não existissem na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pela dádiva da vida e por me permitir realizar tantos sonhos. Obrigado por me permitir errar, acertar, cair e levantar. Obrigado pela sua tolerância e seu amor.

Agradeço ao Prof. Dr. Helder Fernandes de Oliveira, pela orientação, competência, paciência, disposição, carinho e dedicação. Agradeço ao senhor por cada orientação, estímulo e tarefa, sempre buscando o melhor de mim. Tenho certeza que não seria possível chegar até esta etapa sem você. Para mim será na vida mais que um orientador: será sempre um mestre e amigo.

Agradeço aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Daniel de Almeida Decurcio e Prof. Dr^a Cyntia Rodrigues de Araújo Estrela que tão gentilmente aceitaram o convite para participar e colaborar com esta dissertação.

Agradeço aos Professores do PPGO, pelo ensinamento nas disciplinas durante esses dois anos, mesmo que em tempos difíceis, nos mostraram o melhor caminho para sempre acreditar em nós mesmos e buscarmos dar o nosso melhor.

Agradeço à minha amada noiva Ana Paula Gomes Ribeiro Borges, pelo amor, carinho, compreensão e união. Obrigado por estar sempre ao meu lado, mesmo que em determinados momentos eu não tenha dado a devida atenção. Obrigado pelo seu sorriso e por sempre me estimular a ser uma pessoa melhor.

Agradeço de forma especial à minha mãe Kênia e pai Dilmar, pelas lições desde pequeno e todos os ensinamentos, pelo amor, pelo perdão nos momentos em que errei, por permitirem chegar onde cheguei, pois sem vocês isso seria

impossível. Sinto-me privilegiado por ter pais e um irmão tão bom. Amo vocês.

EPÍGRAFE

*“Aqueles que estão apaixonados pela prática sem a ciência são iguais ao piloto que navega sem leme ou bússola e nunca tem certeza para onde vão. A prática deve estar sempre baseada em perfeito conhecimento da teoria.”
(Leonardo da Vinci, 1452-1519).*

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	9
RESUMO.....	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
3. OBJETIVOS	20
3.1 OBJETIVO GERAL.....	20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1 PREPARO DAS AMOSTRAS.....	21
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	22
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
5. RESULTADOS	29
6. DISCUSSÃO	32
7. CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS	36
ANEXO (TCLE)	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
AM	Amazonas
AATC	American type culture collection
BHI	Brain heart infusion (infusão cérebro coração)
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
Comp	Company
°C	grau celsius
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
Lt	Lote
mL	mililitro
mm	milímetro
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
n.	Número
NaOCl	Hipoclorito de sódio
pH	Potencial hidrogeniônico
PCR	Preparo do canal radicular
SP	São Paulo
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TF	Twisted file
TM	Trademark
USA	United States of America
UK	United Kindom
UV	Ultravioleta
WOG	Wave One Gold

RESUMO

Objetivo: Comparar o potencial de redução bacteriana de diferentes protocolos de sanificação em canais radiculares infectados por *Enterococcus faecalis*.

Material e Métodos: Oitenta molares humanos inferiores extraídos foram acessados e esvaziados, posteriormente inoculados com *E. faecalis* e incubados a 37°C por sessenta dias, com repetidas inoculações à cada 72h. Após o período, os espécimes foram aleatoriamente distribuídos em quatro grupos experimentais (n=18) e dois grupos controles, sendo um grupo controle positivo (n=04) e um grupo controle negativo (n=04), conforme o protocolo de sanificação empregado: G1. Wave One Gold (WOG)+irrigação ultrassônica passiva (PUI) + Ultracal; G2. WOG+PUI+hidróxido de cálcio (CH); G3. WOG+XP ENDO FINISHER (XPF)+Ultracal; G4. WOG+XPF+CH. A coleta microbiológica foi realizada antes (S1), pós-preparo (S2), pós-agitação final (S3) e pós-medicação (S4) por meio de pontas de papel esterilizadas. Todos os grupos mostraram redução bacteriana após a agitação da solução irrigadora. O crescimento bacteriano foi analisado pela turbidez do meio de cultura e espectrofotometria UV. O teste de t de Student foi usado para a análise pareada, enquanto o teste ANOVA One-Way para a análise não pareada.

Resultados: Foram encontradas diferenças quanto a redução bacteriana nas sucessivas coletas realizadas (S2, S3, e S4) em comparação com a contaminação inicial (S1), nos grupos 2, 3, 4. ($p < 0,05$). Nas coletas realizadas nos diferentes grupos, observou-se diferenças entre os grupos G1-G2 e G1-G3 ($p < 0,05$) quanto a redução bacteriana nas coletas realizadas após a medicação (S4). **Conclusão:** O grupo 2 apresentou uma maior redução bacteriana (85%) quando comparado aos demais grupos após realizados o protocolo de sanificação proposto em cada grupo experimental.

Palavras-chave: Preparo de canal radicular, *Enterococcus faecalis*, biofilme, hipoclorito de sódio, hidróxido de cálcio.

ABSTRACT

Objective: To compare the bacterial reduction potential of different sanitization protocols in root canals infected by *Enterococcus faecalis*.

Material and Methods: Eighty extracted lower human molars were accessed and emptied, subsequently inoculated with *E. faecalis* and incubated at 37°C for sixty days, with repeated inoculations every 72h. After the period, the specimens were randomly distributed in four experimental groups (n=18) and two control groups, being a positive control group (n=04) and a negative control group (n=04), according to the sanitation protocol used: G1. Wave One Gold (WOG) + Passive Ultrasonic Irrigation (PUI) + Ultracal; G2. WOG+PUI+calcium hydroxide (CH); G3. WOG+XPF+Ultracal; G4. WOG+XPF+CH. Microbiological collection was performed before (S1), post-preparation (S2), post-final shaking (S3) and post-medication (S4) using sterilized paper points. All groups showed bacterial reduction after shaking the irrigating solution. Bacterial growth was analyzed by culture medium turbidity and UV spectrophotometry. Student's t test was used for the paired analysis, while the One-Way ANOVA test was used for the unpaired analysis. **Results:** Differences were found regarding bacterial reduction in the successive collections performed (S2, S3, and S4) compared to the initial contamination (S1), in groups 2, 3, 4. ($p < 0.05$). In the collections carried out in the different groups, differences were observed between the groups G1-G2 and G1-G3 ($p < 0.05$) regarding the bacterial reduction in the collections performed after medication (S4). **Conclusion:** Group 2 showed a greater bacterial reduction (85%) when compared to the other groups after performing the sanitation protocol proposed in each experimental group.

Keywords: Root canal preparation, *Enterococcus faecalis*, biofilms, sodium hypochlorite, calcium hydroxide.

1. INTRODUÇÃO

A invasão microbiana no sistema de canais radiculares e sua consequente difusão no interior dos túbulos dentinários podem constituir em causas que levam ao fracasso do tratamento endodôntico (NAIR *et al.*, 2005). Desta forma, torna-se essencial, potencializar os processos de sanificação por meio da agitação da solução irrigadora e da utilização da medicação intracanal de forma complementar, no intuito de reduzir ao máximo o número de microrganismos em canais radiculares infectados (SIQUEIRA *et al.* 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2018; SOUSA *et al.*, 2018).

Embora, mesmo realizados uma modelagem adequada, limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares pelas técnicas convencionais, o insucesso do tratamento ainda permeia o clínico, dado a complexidade da morfologia interna (ESTRELA *et al.*, 2009).

A manutenção de bactérias e seus subprodutos em áreas não alcançadas pela ação mecânica do instrumento, como istmos, reentrâncias, ramificações, e/ou canais acessórios e curvos podem ser um empecilho para um controle microbiano ideal e um entrave para o alcance dos objetivos desejados pela terapia endodôntica. (PETERS *et al.*, 2001; GLUSKIN, 2007; MADHUSUDHANA *et al.*, 2010; ALVES *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2018; SOUSA *et al.*, 2018).

Fracassos no tratamento endodôntico e que levam como consequência o desenvolvimento de infecções endodônticas persistentes, podem ter origem na presença de bactérias resistentes aos métodos tradicionais de sanificação. A presença do *E. faecalis* no interior dos canais radiculares, tem sido causa de falhas na terapia endodôntica sobretudo por sua capacidade de invadir, colonizar os túbulos dentinários e se estruturar em biofilme principalmente nas áreas de difícil acesso do instrumento endodôntico (SUNDQVIST *et al.*, 1998; NAIR *et al.*, 2005).

Em virtude dessa resistência e capacidade de se organizar, diferentes estudos vêm sendo propostos utilizando o *E. faecalis* como modelo de biofilme para se avaliar os diferentes instrumentos rotatórios, as soluções irrigantes e as medicações intracanaís quanto ao potencial antibacteriano (ESTRELA *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2018; SOUSA *et al.*, 2018)

Avaliações realizadas por microtomografia computadorizada têm apontado que a morfologia interna do canal radicular apresenta um formato muito mais ovalado e irregular do que circular ou arredondado, que pode refletir na ineficácia da instrumentação mecânica em tocar todas as áreas do canal principal durante o preparo. (PETERS *et al.*, 2001; PAQUÉ *et al.*, 2009). Essas áreas não alcançadas pelo instrumento podem manter o biofilme bacteriano intacto e dificultar sobremaneira a redução no número de microrganismos remanescentes (HAAPASALO *et al.*, 2007; ALVES *et al.*, 2012; VERSIANI *et al.*, 2013; SIQUEIRA *et al.*, 2013;).

O papel da medicação intracanal como estratégia de tratamento complementar que vise atingir as bactérias presentes nas ramificações por meio da sua difusão no interior dos túbulos dentinários torna-se hoje essencial. A medicação intracanal mais utilizada e indicada há décadas é o hidróxido de cálcio (ESTRELA *et al.*, 2001). Assim, a escolha do veículo que é incorporado ao pó é fundamental para permitir uma ação antimicrobiana adequada e contribuir para o reparo da região periapical. Diferentes veículos têm sido utilizados em associação ao hidróxido de cálcio, de modo a permitir uma maior facilidade quanto a sua inserção no interior dos canais radiculares. Entretanto, a velocidade de dissociação iônica do hidróxido de cálcio, e conseqüentemente, no seu poder antimicrobiano podem ser fortemente influenciados pelo tipo de veículo presente (ESTRELA *et al.*, 1995; SIQUEIRA *et al.*, 1998; HOCKETT *et al.*, 2008; HAAPASALO *et al.*, 2010).

Desta forma, estratégias para desinfecção do canal radicular devem ser direcionadas para o uso de técnicas eficazes que possam maximizar o processo de sanificação do canal radicular. A definição de um conjunto instrumento, protocolo de agitação final da solução irrigadora e medicação intracanal é importante para o estabelecimento de um modelo de sanificação ideal. Este estudo comparou o potencial de redução bacteriana de diferentes protocolos de sanificação em canais radiculares infectados por *E. faecalis* turbidez do meio de cultura e espectrofotometria UV. A hipótese nula foi que a redução bacteriana não é influenciada pelo protocolo de sanificação utilizado considerando o conjunto instrumento utilizado no preparo, agitação final e medicação intracanal.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A maior redução possível da carga micribiana do sistema de canais radiculares é a principal meta da terapia endodôntica. Essa limpeza inclui a eliminação de microrganismos, quando presentes, que se alojam na complexa anatomia do sistema de canais radiculares. Kakehashi *et al.*, (1965) observaram o efeito de exposições cirúrgicas à cavidade bucal de polpas dentais de ratos livres de germes e ratos com microbiota oral nativa. No grupo em que estava presente a microbiota nativa houve presença de destruição pulpar e formação de lesão periapical. No grupo de animais livres de germes, não se observou o desenvolvimento de lesão periapical, mas sim, a tentativa de reparação pulpar com formação de pontes de osteodentina, demonstrando o potencial de reparação pulpar na ausência de infecção, demonstrando o potencial de alteração pulpar e periapical quando presente microbiota na região.

Devido a capacidade do *E. faecalis* de sobreviver e crescer nos túbulos dentinários e recontaminar os canais radiculares obturados, esta espécie micribiana foi a de escolha do objeto de estudo *in vitro* realizado por Love (2001). O autor avaliou a habilidade da espécie de invadir túbulos dentinários e aderir ao colágeno tipo 1 imobilizado na presença do serum humano. Os resultados mostraram que a invasão dentinária pelo *E. faecalis* foi reduzida na presença do serum, mas não inibida, e a adesão ao colágeno foi reforçada. O autor concluiu que o fator de virulência do *E. faecalis* na falha do dente tratado endodonticamente pode estar relacionada à sua habilidade de manter a capacidade de invadir túbulos dentinários e aderir ao colágeno na presença de serum humano.

Portenier *et al.*, (2003) publicaram um resumo sobre as características do *E. faecalis*, o mecanismo de formação do biofilme e sua conhecida resistência aos antimicrobianos. Os autores descreveram que, mesmo após um longo período sem nutrientes, o *E. faecalis* consegue se manter em um estágio estacionário, com redução do tamanho celular, por um longo período de tempo. Nesse período, as bactérias permanecem viáveis, mas não cultiváveis pelas técnicas microbiológicas padrões. Os autores concluíram que, por todas as características apresentadas, o *E. faecalis* é um importante patógeno nas infecções em humanos e a sua completa eliminação pelos antimicrobianos ainda

é um desafio.

Kvist *et al.* (2004) avaliaram o tratamento endodôntico realizado em uma ou duas sessões. Noventa e seis dentes com periodontite apical foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Grupo A – obturação em sessão única após utilização de iodo iodeto de potássio intracanal por 10 minutos; Grupo B – utilização de hidróxido de cálcio entre sessões. As amostras foram coletadas antes e após o preparo do canal radicular, e após o uso da medicação intracanal. A coleta inicial demonstrou presença de microrganismos em 98% dos dentes. Após o preparo e uso da medicação intracanal, houve presença de microrganismos em 29% dos dentes do grupo A e 36% dos dentes do grupo B, diferença não significativa estatisticamente.

Souza *et al.* (2005) estudaram a microbiota predominante em dentes com polpa necrosada e lesão periapical e avaliaram os efeitos do tratamento endodôntico associado ao uso do hidróxido de cálcio nesses microrganismos por técnicas de biologia molecular. Foram selecionados 12 pacientes adultos com dentes unirradiculares necrosados e evidências radiográficas de lesão periapical, sem sintomatologia ou ingestão de antibióticos por 3 meses. Após isolamento do campo operatório e abertura coronária, uma amostra inicial foi coletada dos canais radiculares. Os canais radiculares foram preenchidos com solução fisiológica, agitados com lima no 15 a 1mm aquém do limite apical, e o líquido coletado com pontas de papel absorvente por 1 minuto, e levadas ao meio de cultura específico. Assim, os dentes foram preparados e irrigados com hipoclorito de sódio a 5,25%. Após o preparo, os canais radiculares foram secos e preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio e solução fisiológica, permanecendo por 14 dias. Na segunda sessão, a medicação foi removida com irrigação com solução fisiológica, e uma segunda amostra foi coletada e os dentes foram obturados. Foi determinada a presença de 44 espécies bacterianas pelo método de hibridização de checkerboard DNA-DNA. Os resultados foram analisados estatisticamente. Todas as amostras foram positivas para pelo menos uma espécie bacteriana. A terapia endodôntica mostrou uma redução significativa na prevalência da maioria das espécies examinadas, com uma redução média de 52% da amostra inicial.

Waltimo *et al.* (2005) avaliaram a eficácia clínica do preparo químico-mecânico com hipoclorito de sódio e o uso de medicação intracanal de hidróxido de cálcio no controle da infecção do canal radicular. Foram incluídos no estudo 50 dentes diagnosticados com periodontite apical crônica e index periapical (PAI) score 3, 4 ou 5, com amostras microbiológicas iniciais positivas. Os dentes foram divididos aleatoriamente em três grupos: sessão única (n= 20), uso de hidróxido de cálcio (n= 18) e canal vazio entre sessões (n= 12). Na amostra inicial, houve proporção igual entre os três grupos estudados, sendo todas as amostras positivas. Após o preparo do canal radicular, houve 20, 22 e 33% de crescimento nos grupos de sessão única, uso de hidróxido de cálcio e nenhuma medicação, respectivamente. Após o uso do hidróxido de cálcio, 33% das amostras mostraram crescimento microbiano, enquanto no grupo sem medicação, em 67% houve crescimento na segunda sessão. Nas amostras iniciais houve predomínio de microrganismos anaeróbios, e após o preparo, houve diminuição da quantidade de microrganismos, sendo que a proporção entre eles permaneceu a mesma. Entretanto, nas amostras coletadas na segunda sessão, houve predomínio de microrganismos facultativos Gram-positivos.

Nair *et al.* (2005) realizaram um estudo no qual, após tratamento endodôntico em sessão única de 16 molares inferiores com periodontite apical primária, a porção apical da raiz mesial de cada dente foi removida cirurgicamente. Os espécimes foram processados e avaliados por microscopia óptica e microscopia eletrônica de transmissão. Os resultados mostraram infecção residual intracanal após o tratamento endodôntico. Os autores concluíram que devido à complexidade anatômica do canal radicular do primeiro molar inferior e a organização dos microrganismos em biofilme em áreas inacessíveis do sistema de canais radiculares, não é possível a sua completa desinfecção em uma única sessão de tratamento endodôntico.

Penesis *et al.* (2008) compararam, por meio de um estudo clínico controlado randomizado, o reparo ósseo evidenciado radiograficamente de dentes tratados endodonticamente em uma ou duas sessões. Noventa e sete pacientes satisfizeram os critérios de inclusão e concordaram em participar do

estudo. Estes foram divididos em 2 grupos, sendo que no grupo tratado em duas sessões, os dentes foram preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio associada à clorexidina. Sessenta e três pacientes, 33 do grupo tratado em sessão única e 30 tratados em duas sessões, foram avaliados após 12 meses. Ambos os grupos apresentaram reparo ósseo favorável, sem diferenças estatisticamente significantes entre eles.

Estrela *et al.*, (2009) realizaram uma revisão crítica da literatura a respeito da eficácia antimicrobiana de medicamentos intracanáis sobre o biofilme. Concluíram que a medicação desinfetante utilizada no canal radicular reduz a população bacteriana e favorece o prognóstico e que a ação sobre o biofilme bacteriano ainda precisa ser confirmada através de estudos adicionais. Ainda em 2009, Estrela *et al.*, realizaram estudo *in vitro* com a proposta de desenvolver um biofilme padrão viável para estudos em estratégias antimicrobianas. Foi obtido, através de desenho experimental, um modelo de biofilme na dentina radicular humana com 60 dias de desenvolvimento sob baixa oxigenação e ambiente rico em nutriente. Os autores concluíram que tal modelo parece ser viável para os estudos que visam criar estratégias antimicrobianas, e permitir um satisfatório tempo de colonização de espécies microbianas selecionadas com propriedades de virulência e aderência.

Paqué *et al.*, (2009) mostraram, através de imagens de microtomografia, o acúmulo de debris em istmos de canais mesiais de molares inferiores após instrumentação rotatória. Os resultados reforçaram a importância dos protocolos de irrigação como adjuvante no processo de limpeza e desinfecção do canal radicular.

Brito *et al.*, (2009) realizaram estudo *in vitro* com o objetivo de comparar a redução microbiana no interior do canal radicular após preparo químico-cirúrgico utilizando três diferentes técnicas de irrigação. Foram utilizados dentes unirradiculares extraídos e inoculados com uma suspensão contendo *E.faecalis*. As soluções utilizadas foram hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA 17%. A irrigação foi realizada em um grupo com agulhas NaviTip inseridas a 3 mm do comprimento de trabalho, em outro com as mesmas agulhas e com agitação final com o sistema EndoActivator e no terceiro grupo foi utilizado o Endovac. Os

resultados não mostraram diferenças estatísticas entre os grupos experimentais com relação à redução microbiana do canal radicular infectado.

Sathorn *et al.* (2007) estudaram a eficácia do hidróxido de cálcio como medicação intracanal em dentes humanos infectados, por meio de uma revisão sistemática e meta-análise. Como base de dados foi utilizada a CENTRAL, MEDLINE e EMBASE, assim como as listas de referências dos artigos selecionados. Os critérios de inclusão adotados foram estudos clínicos que compararam o número de microrganismos antes e após o tratamento endodôntico de canais radiculares infectados, utilizando-se como medicação intracanal a pasta de hidróxido de cálcio. Foram selecionados 8 estudos, perfazendo um total de 257 casos. O tamanho das amostras variou entre 18 e 60 dentes. Seis estudos demonstraram diferenças estatisticamente significantes entre culturas pré e pós-medicação intracanal a base de hidróxido de cálcio. Houve uma heterogeneidade considerável entre os estudos. Após a meta-análise, observou-se não haver diferenças estatisticamente significantes entre o número de microrganismos presentes nos canais radiculares antes e após a utilização do hidróxido de cálcio como medicação intracanal em dentes humanos infectados.

Loureiro *et al.*, (2018) avaliaram em um estudo *in vitro* a composição química e a radiopacidade de diferentes pastas de hidróxido de cálcio. Foram avaliadas três pastas comerciais: Ultracal XS®; Hydropast® e Callen® por análise termogravimétrica, e a massa de hidróxido de cálcio presente foi obtida por meio de cálculos estequiométricos a partir da decomposição térmica de suas moléculas. Os resultados apontaram hidróxido de cálcio P.A.: 87,12%; Ultracal XS®: 36,38%; Hydropast®: 30,66%; Callen®: 50,54%. Os valores de cinza das pastas foram de: 63,41 para o hidróxido de cálcio P.A.; 126,35 para Ultracal XS®; 106,73 para Hydropast®, e 72,23 para Callen®. Na mesma análise, a escala de alumínio apresentou os valores: Al 1mm: 53,50; Al 4 mm: 98,06; Al 8mm: 162,14; Al 12mm: 205,4. Os autores concluíram que houve diferenças em todas as pastas entre a quantidade de hidróxido de cálcio informada pelo fabricante e a quantidade encontrada nas análises termogravimétricas. As pastas comerciais testadas apresentaram maior radiopacidade que o grupo controle. A Ultracal

XS® foi o material com maior radiopacidade, seguido da Hydropast e Callen.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Comparar o potencial de redução bacteriana de diferentes protocolos de sanificação em canais radiculares infectados por *Enterococcus faecalis*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1. Avaliar a redução bacteriana em canais radiculares infectados por *E. faecalis* nas diferentes fases do tratamento endodôntico incluindo preparo, agitação final e medicação intracanal, nos diferentes protocolos de sanificação testados (G1. Wave One Gold (WOG) + irrigação ultrassônica passiva (PUI) + Ultracal; G2. WOG+PUI + hidróxido de cálcio (CH); G3. WOG+XP ENDO FINISHER (XPF)+Ultracal; G4. WOG+XPF+CH) por meio da espectrofotometria UV .

3.2.2. Comparar a redução bacteriana entre os diferentes grupos testados (G1. Wave One Gold (WOG) + irrigação ultrassônica passiva (PUI) + Ultracal; G2. WOG+PUI + hidróxido de cálcio (CH); G3. WOG+XPF+Ultracal; G4. WOG+XPF+CH) por meio da espectrofotometria UV .

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo do estudo foi revisado e aprovado Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Evangélica de Goiás (CAAE n. 81431717.1.0000.5076).

4.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

O cálculo amostral foi realizado usando o G*Power v3.1 para Mac (Heirinch Heine, University of Dusseldorf) e selecionado o teste Wilcoxon-Whitney da família do test *t*. Estipulou-se o erro alfa 0,05, o poder do beta em 0,95 e uma proporção N2/N1 de 1. O teste evidenciou um total de 36 amostras para cada tipo de medicação intracanal, sendo 18 amostras para Ultracal e 18 para hidróxido de cálcio, testada como tamanho ideal para identificar diferenças significantes.

Foram selecionados 80 molares humanos inferiores extraídos, cedidos por pacientes, maiores de 18 anos, provenientes das clínicas do curso de Odontologia da Universidade Evangélica de Goiás - UniEVANGÉLICA, e com indicação de exodontia por motivos periodontais ou protéticos. Os dentes foram obtidos posteriormente à leitura, compreensão e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelo paciente, resguardando o sigilo quanto à sua privacidade e confidencialidade.

Os dentes extraídos foram acondicionados em frasco contendo solução de timol à 0,2% (Farmácia Escola da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil). Em seguida, foram imersos em NaOCl à 5% (Fitofarma, Goiânia, GO, Brasil) por 30 minutos para remoção de tecidos orgânicos da superfície externa das raízes.

Foram realizadas radiografias periapicais digitais dos dentes antes dos procedimentos, nos sentidos vestibulo-lingual e mésio-distal a fim de se verificar a ausência de obliterações do canal radicular, reabsorções radiculares internas e externas, ausência de trincas e fraturas, ausência de tratamento endodôntico prévio, retentor intraradicular e para confirmar presença de fechamento do ápice radicular. Foram utilizados somente dentes molares inferiores humanos que apresentassem três canais radiculares (molares inferiores – canal distal, canal mesiovestibular e canal mesiolingual). Os valores dos raios de curvatura das

raízes foram determinados de acordo com o método sugerido por Schneider, 1971 (21). Todos os dentes apresentavam comprimento inferior a 22 mm e curvatura moderada com raio $r > 4$ e $r < 8$ mm.

As imagens foram obtidas utilizando o aparelho de raios-x intraoral Soredex Minray® (Soredex, Helsinque, Finlândia), um sensor de placa de fósforo e um leitor Digora® Optime Classic (Soredex, Helsinque, Finlândia) pela técnica do paralelismo em que o feixe de raios X incidiu perpendicularmente ao longo eixo do dente. As imagens foram observadas operando o software Digora for Windows versão 1.51 em uma estação de trabalho PC com o Windows XP profissional SP - 2 (Microsoft Corp Redmond , WA , EUA) com o processador Intel Core 2 Duo 1,86 Ghz -6300 (Intel Corp, Santa Clara,CA, EUA), placa de vídeo NVIDIA Ge Force 6200 turbo cache (NVIDIA Corporation, Santa Clara, CA, EUA) e com um monitor EIZO - Flexscan S2000 , resolução de 1600x1200 pixels (EIZONANAO Corp, Hakusan).

Os dentes foram preparados com cavidades de acesso padrão e patência do canal radicular alcançada com lima tipo K-flexofile n.15 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), comprovada pela visualização direta da ponta da lima no forame apical. No intuito de padronizar o diâmetro do canal inicial e criar espaço para a contaminação bacteriana das amostras, todos os dentes foram inicialmente alargados com instrumento recíprocante WaveOne® Gold (WOG) Primary 25/.007 (Dentsply Maillefer) acionado pelo motor elétrico X-SMART™ Plus (Dentsply Maillefer) seguindo as especificações do fabricante. Posterior ao procedimento inicial de abertura e esvaziamento e preparo prévio, os espécimes foram autoclavados por 30 minutos a 120°C.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os dentes foram montados em uma plataforma de modo a permitir a inoculação do marcador biológico (GLUSKIN, A.H, 2007). A porção coronária do canal radicular de cada espécime foi conectada a um frasco de plástico de 5 mL (FLEPA, São Paulo, SP, Brasil) cuja tampa foi removida para permitir a adaptação da porção cervical da raiz. Após a adaptação, foram empregadas duas camadas de adesivo cianoacrilato (Super Bonder®, Henkel Loclite Adesivos

Ltda., Itapevi, SP) para vedar a conexão. Para tanto, foram aplicadas duas camadas de cianoacrilato cada qual com intervalo de uma hora, sendo os espécimes mantidos em temperatura ambiente, até se estabelecer a secagem dos mesmos. A seguir, a porção tubo-dente foi selada com uma camada de resina epóxi (Durepóxi[®], Alba Química Indústria e Comércio Ltda., Boituva, SP, Brasil), com vistas a garantir uma adequada impermeabilização.

Os conjuntos, dentes acoplados nos frascos de plástico, foram imersos em NaOCl à 5% (Fitofarma Lt. 20553, Goiânia, GO, Brasil) por 30 minutos. O conjunto foi enxaguado com água destilada e, em seguida, cada conjunto foi acoplado a um frasco de 20 mL, com tampa, contendo 10 mL do meio de cultura (BHI; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) de forma que a porção apical do dente permanecesse submersa durante todo o período de contaminação. Para assegurar o controle de infecção, o aparato teste foi incubado a 37°C por 24 horas. Decorrido esse período de tempo, nenhum crescimento bacteriano foi observado.

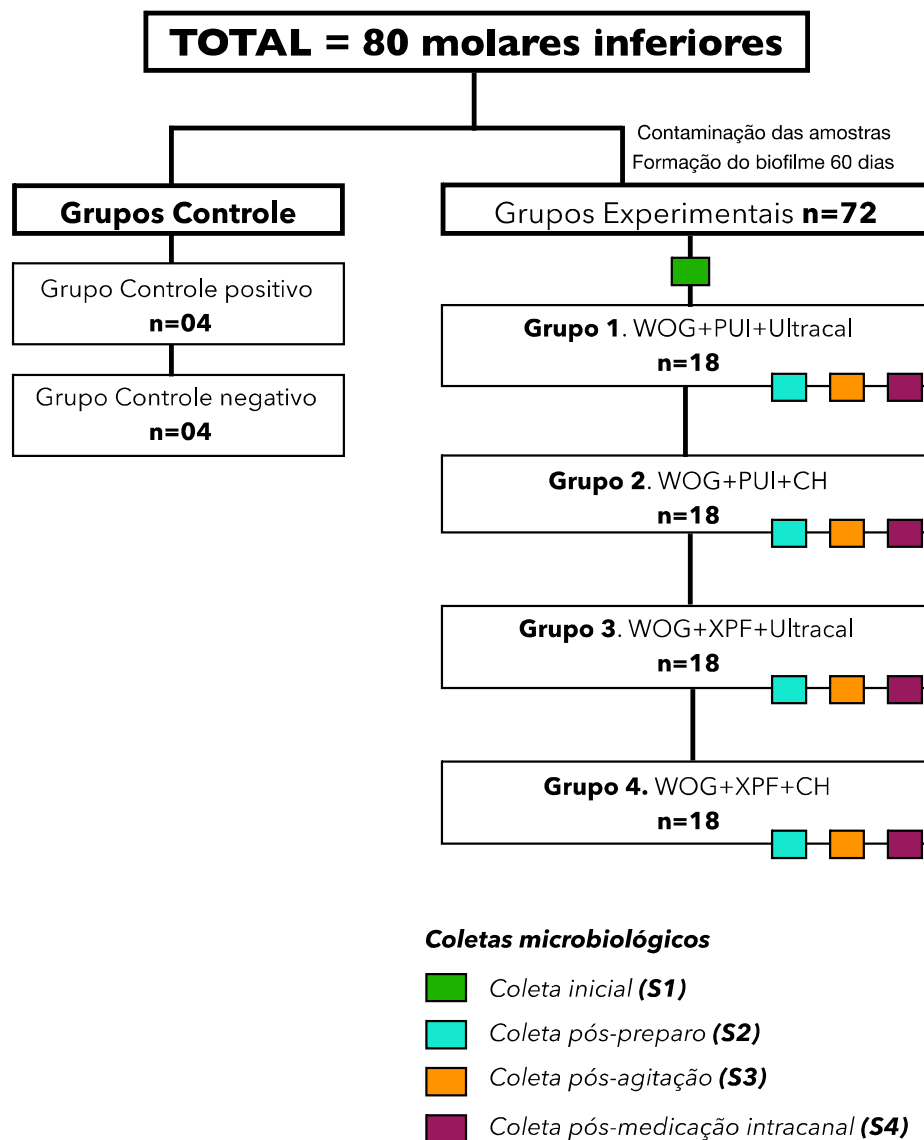
Para a formação do biofilme foi utilizada uma cepa referência de *E. faecalis* (ATCC 29212) obtida da *American Type Culture Collection*. A cepa bacteriana foi inoculada em 7 mL de infusão cérebro coração (BHI; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) e incubada a 37°C por 24 horas. Vinte e quatro horas antes da inoculação dos dentes, o microrganismo foi cultivado na superfície do BHI ágar seguindo as mesmas condições de incubação. O inóculo bacteriano foi obtido pela ressuspensão das células em solução salina em uma concentração final de aproximadamente 3×10^8 células mL⁻¹, ajustada ao tubo número 1 da escala de McFarland.

Para contaminação das amostras, 5 mL do BHI esterilizado foram misturados a 5 mL da suspensão bacteriana, e os dois grupos experimentais (n=36) e o grupo controle positivo (n=04) foram inoculados com *E. faecalis* por 60 dias, usando seringas esterilizadas com volume suficiente para preencher o canal radicular. Este procedimento foi repetido a cada 72 horas, sempre utilizando cultura pura com 24 horas de preparo e ajustada ao padrão 1 de McFarland. Os espécimes foram mantidos em estufa microbiológica a 37°C.

Após o período de formação do biofilme, os dentes foram então

aleatoriamente distribuídos em quatro grupos experimentais (n=18) e um grupo controle positivo (n=04), não sendo incluído o grupo controle negativo (n=04), conforme o protocolo de sanificação adotado que incluiu o preparo, a técnica de agitação final da solução irrigadora NaOCl à 2.5% e a medicação intracanal (Figura 1).

Figura 1. Distribuição dos grupos experimentais conforme o protocolo de sanificação adotado que incluiu o preparo, a técnica de agitação final e a medicação intracanal



Grupo 1. WOG+PUI+Ultracal. WOG introduzido no canal radicular por movimento recíprocante com o instrumento de diâmetro 35.06 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland, agitação final da solução irrigadora com a ponta ultrassônica E1-Irrisonic (PUI) (Helse Dental Technology, Santa Rosa de Viterbo, SP, Brasil), acoplada ao Ultrassom EMS Piezon Master 200 (EMS, São Bernardo do Campo, SP, Brasil), ajustada à potência de 10% em três ciclos de 20 segundos cada (10) e preenchido com pasta de hidróxido de cálcio associada a metilcelulose (Ultracal XS® Ultradent, St Louis, US) como medicação intracanal.

Grupo 2. WOG+PUI+CH. WOG introduzido no canal radicular por movimento recíprocante com o instrumento de diâmetro 35.06 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland, agitação final da solução irrigadora com a ponta ultrassônica E1-Irrisonic (PUI) (Helse Dental Technology, Santa Rosa de Viterbo, SP, Brasil), acoplada ao Ultrassom EMS Piezon Master 200 (EMS, São Bernardo do Campo, SP, Brasil), ajustada à potência de 10% em três ciclos de 20 segundos cada (10) e preenchido com pasta de hidróxido de cálcio P.A (CH) associada água destilada como medicação intracanal (Biodinâmica, Ibitiporã, PR, Brasil).

Grupo 3. WOG+XPF+Ultracal. WOG introduzido no canal radicular por movimento recíprocante com o instrumento de diâmetro 35.06 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland, agitação final da solução irrigadora com o instrumento XP-endo Finisher (XPF) (FKG Dentaire, Swiss Dental Products, La Chaux de-Fonds, Switzerland) realizado acoplado ao motor elétrico X-Smart Plus (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), com velocidade de 800 rpm e torque de 1 Ncm, em três ciclos de 20 segundos cada (10) e preenchido com pasta de hidróxido de cálcio associada a metilcelulose (Ultracal XS® Ultradent, St Louis, US) como medicação intracanal.

Grupo 4. WOG+XPF+CH. WOG introduzido no canal radicular por movimento recíprocante com o instrumento de diâmetro 35.06 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland, agitação final da solução irrigadora com o instrumento XP-endo Finisher (XPF) (FKG Dentaire, Swiss Dental Products, La Chaux de-Fonds, Switzerland) realizado acoplado ao motor elétrico X-Smart Plus

(Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), com velocidade de 800 rpm e torque de 1 Ncm, em três ciclos de 20 segundos cada (10) e preenchido com pasta de hidróxido de cálcio P.A (CH) associado à água destilada como medicação intracanal (Biodinâmica, Ibiporã, PR, Brasil).

Em seguida os canais radiculares foram secos e preenchidos com água destilada. Em cada amostra, três pontas de papel esterilizadas n. 25 (Tanari, Tanariman Indústria Ltda., Manacaru, AM, Brasil) foram introduzidas dentro dos canais radiculares de cada dente e mantidas por 3 minutos para realização da primeira coleta microbiológica (S1) antes da instrumentação. Posteriormente, essas pontas de papel foram imersas em 7 mL de Letheen Broth (LB; Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA) adicionado com neutralizantes Tween 80 e tiosulfato de sódio (P.A., Laboratório Art, Campinas, SP, Brasil) em concentrações apropriadas seguida pela incubação a 37°C por 48 horas. Na sequência, os espécimes foram removidos da plataforma e os grupos experimentais (n=18) foram preparados utilizando-se o instrumento recíprocante WOG Medium 35/.06 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) acionados pelo motor elétrico X-SMART™ Plus (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) seguindo as especificações do fabricante. Durante o preparo, cada canal radicular foi irrigado com aproximadamente 3 mL de solução, previamente preparada, de NaOCl à 2.5% (Fitofarma Lt. 20553, Goiânia, GO, Brasil). Para realização da instrumentação, foi utilizado um instrumento para cada 12 dentes, totalizando seis instrumentos para o preparo dos grupos experimentais. A execução dos preparos dos canais radiculares foi realizada por um especialista em endodontia, com mais de quinze anos de experiência.

Para cada grupo experimental (n=18), a solução irrigadora empregada foi o NaOCl à 2.5% padronizada com volume de 10 mL de irrigante. A irrigação convencional foi realizada com seringa Ultradent de 5 mL e cânula de irrigação Navitip (Ultradent Products, South, South Jordan, UT) com diâmetro de 0,30 mm posicionada 2 mm aquém do ápice.

Após o preparo do canal radicular, foi realizada a segunda coleta microbiológica (S2) em condições semelhantes a primeira. Em seguida, os canais radiculares de cada dente foram secos com ponta de papel absorvente

correspondente ao diâmetro cirúrgico de cada grupo, onde foram todos iguais e padronizados, e cada canal preenchido com 3 mL de EDTA a 17%, mantido sob agitação por 20 segundos. Essa etapa foi realizada uma única vez em cada dente a fim de promover um preparo prévio dos canais radiculares. Posteriormente, seguindo as divisões dos grupos foi realizada o protocolo de agitação da solução irrigadora, desta vez com NaOCl à 2.5%, sendo 3 ciclos de 20 segundos em cada dente.

Após o processo de irrigação em cada grupo, uma irrigação adicional com 5 mL de água destilada esterilizada, foi realizada a terceira coleta (S3), que também foi realizada em condições iguais às demais coletas. As pontas foram imersas em um tubo de ensaio contendo 7 mL de Lethen Broth (LB; Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA), adicionado com neutralizantes Lethen, Tween 80 e tiosulfato de sódio (P.A., Laboratório Art, Campinas, SP, Brasil) em concentrações apropriadas, seguida pela incubação a 37°C por 48 horas. O crescimento bacteriano foi avaliado pela turbidez do meio de cultura utilizando espectrofotômetro UV (Spectrophotometer Model Nova 1600 UV, Piracicaba, SP, Brasil). Todas as coletas foram realizadas sob condições assépticas.

Posteriormente realizou-se a quarta fase, do qual os grupos foram preenchidos e mantidos com a respectiva medicação intracanal testada, com o indicado preenchimento de cada medicação, sendo de forma manual com limas endodônticas de calibre adequado e cones de papel para inserção do hidróxido de cálcio associado à água destilada e ultracal através de pontas navtip, durante o período de 21 dias, selados coronariamente com cimento de ionômero de vidro Vidro (Riva, SDI Brasil Industria e Comercio Ltda., São Paulo, SP, Brasil). Foi de extrema importância a confirmação do correto preenchimento do canal radicular com a medicação intracanal, sendo verificado mediante exame radiográfico periapical. Decorrido o período de manutenção da medicação intracanal, a pasta de hidróxido de cálcio foi removida, e nova coleta realizada após a remoção da medicação intracanal (S4).

O grupo controle positivo foi usado para verificar a viabilidade bacteriana e o negativo, para avaliar a esterilidade das amostras. Desta forma, durante um período de 60 dias de contaminação dos canais radiculares, quatro espécimes

não contaminados foram colocados em incubação a 37°C, como um controle asséptico, e quatro foram contaminados com *E. faecalis*, em condições atmosféricas similares às descritas anteriormente.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O cálculo da normalidade foi realizada pelo teste de Shapiro-Wilk e mostrou uma distribuição não paramétrica. As variáveis quantitativas foram resumidas com as medianas e os intervalos interquartis (Q25-Q75). Na análise pareada que comparou os valores da densidade óptica para cada grupo experimental nas diferentes fases da coleta microbiológica foi aplicado o teste de t de Student com nível de significância de 5%. Na análise não pareada comparando-se os valores da densidade óptica entre as coletas realizadas nos diferentes grupos foi aplicado o teste de ANOVA One-Way com nível de significância de 5%. Os dados obtidos foram analisados por meio do software Jamovi, versão 1.1.9 (The Jamovi Project, 2019).

5. RESULTADOS

A tabela 1 apresenta os resultados das medianas (nm) e intervalo interquartil (Q25-Q75) da densidade óptica (nm) do meio de cultura nas quatro coletas microbiológicas realizadas (S1, S2, S3 e S4), por meio de espectrofotometria UV. Embora todos os grupos tenham mostrado redução significativa da densidade óptica do meio de cultura nas etapas seguintes à contaminação inicial ($p < 0,05$), nenhuma estratégia promoveu a eliminação completa do *E. faecalis*. Percentual médio (%) de redução bacteriana nas coletas microbiológicas realizadas pós contaminação inicial (S2, S3 e S4) nos diferentes grupos testados estão representados na Figura 2.

Na análise pareada que comparou os valores da densidade óptica para cada grupo experimental foram encontradas diferenças quanto a redução bacteriana nas sucessivas coletas realizadas (S2, S3, e S4) em comparação com a contaminação inicial (S1), nos grupos 2, 3, 4. ($p < 0,05$). O grupo 1 não apresentou diferenças entre as coletas S3 e S4 ($p > 0,05$). Na análise não pareada comparando-se os valores da densidade óptica entre as coletas realizadas nos diferentes grupos, observou-se diferenças entre os grupos G1-G2 e G1-G3 ($p < 0,05$) quanto a redução bacteriana nas coletas realizadas após a medicação (S4). O grupo 2 apresentou uma maior redução bacteriana (85%) quando comparado aos demais grupos após realizados o protocolo de sanificação proposto em cada grupo experimental.

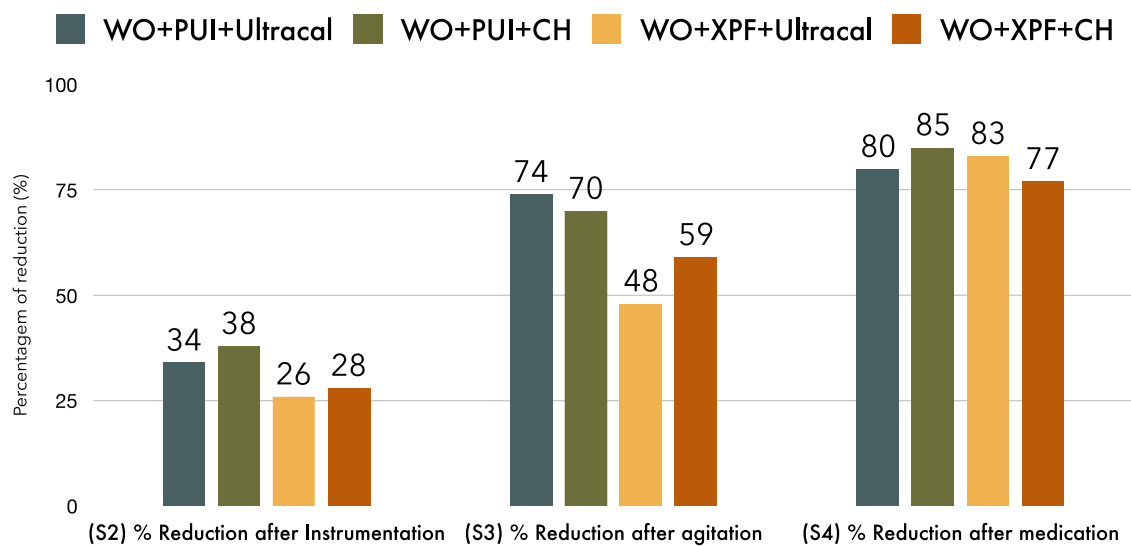
Tabela 1. Mediana (nm) e intervalo interquartil (Q25-Q75) da densidade óptica (nm) do meio de cultura nas quatro coletas microbiológicas realizadas (S1, S2, S3 e S4).

Protocolos Experimentais	S1		S2		S3		S4	
	Coleta inicial		Coleta após instrumentação		Coleta após agitação		Coleta após medicação	
	Mediana	interquartil Q25-Q75	Mediana	interquartil Q25-Q75	Mediana	interquartil Q25-Q75	Mediana	interquartil Q25-Q75
WOG+PUI+Ultracal	0.293 ^{A,a}	0.224-0.347	0.192 ^{B,b}	0.112-0.251	0.075 ^{C,c}	0.013-0.129	0.057 ^{D,a}	0.052-0.088
WOG+PUI+CH	0.281 ^{A,a}	0.229-0.396	0.174 ^{B,b}	0.119-0.217	0.082 ^{C,c}	0.037-0.128	0.040 ^{D,b}	0.036-0.053
WOG+XPE+Ultracal	0.270 ^{A,a}	0.231-0.350	0.199 ^{B,b}	0.179-0.217	0.140 ^{C,c}	0.070-0.191	0.044 ^{D,b,c}	0.036-0.049
WOG+XPE+CH	0.227 ^{A,a}	0.181-0.300	0.163 ^{B,b}	0.137-0.206	0.091 ^{C,c}	0.048-0.140	0.051 ^{D,a,b,c,d}	0.033-0.062
Positive Control	0.350	0.255-0.606						

*Letras minúsculos diferentes indicam existência de diferenças significativas nas colunas (p<0,05).

**Letras maiúsculas diferentes indicam existência de diferenças significativas nas linhas (p<0,05).

Figura 2. Percentual médio (%) de redução bacteriana nas coletas microbiológicas realizadas pós contaminação inicial (S2, S3 e S4) nos diferentes grupos testados



6. DISCUSSÃO

Os diferentes protocolos de sanificação empregados no presente estudo que objetivaram reduzir ao máximo a contaminação bacteriana inicial foi alcançada em ambos os grupos testados nas diferentes coletas microbiológicas (S2, S3 e S4) realizadas. A comparação dos valores das medianas da densidade óptica nas fases sucessivas (S2, S3 e S4) à coleta inicial (S1) em cada grupo experimental testado evidenciou diferenças nos grupos 2 (WOG+PUI+CH), 3 (WOG+XPF+Ultracal) e 4 (WOG+XPF+CH) ($p < 0,05$). Assim, pode-se perceber uma expressiva redução bacteriana quando se empregou o conjunto (instrumentação, agitação final da solução irrigadora e medicação intracanal) nos molares inferiores previamente contaminados (figura 2).

As diferenças encontradas entre os grupos G1-G2 e G1-G3 ($p < 0,05$) quanto a redução bacteriana nas coletas realizadas após a medicação intracanal (S4) levaram a uma rejeição da hipótese nula levantada, uma vez que esses achados corroboram com a ideia de que o tipo de protocolo de sanificação utilizado têm influência no percentual de redução microbiana. Em todos os grupos testados, optou-se por uma padronização do preparo do canal com instrumento reciprocante WOG de diâmetro 35.06, com o intuito de se ter menos variáveis de análise, e da real necessidade de se comparar as técnicas de agitação final promovidas pela PUI e XPF em associação com as diferentes medicações intracanaís empregadas (Ultracal e CH).

As investigações na literatura apontam para a necessidade de uma agitação pós preparo do canal radicular no intuito de se potencializar os efeitos da sanificação e promover uma maior redução da carga microbiana do sistema de canais radiculares (GU *et al.*, 2009; HOLLAND *et al.*, 2017; DECURCIO *et al.*, 2019). Entretanto, nota-se que as avaliações propostas não levam em consideração o uso da medicação intracanal como uma estratégia complementar que vise comparar o real impacto na redução bacteriana quando se percorre todas as etapas do tratamento. Desta forma, levando-se em consideração, a tríade preparo-agitação-medicação, verificou-se que o grupo 2 (WOG+PUI+CH) foi o que apresentou uma maior redução bacteriana (85%) quando comparado aos demais grupos após terem sido realizadas as estratégias de sanificação

propostas no experimento. A união combinada dos efeitos proporcionados pela PUI, do qual possibilita um fluxo acústico do irrigante permitindo uma maior eficácia do NaOCl na remoção dos biofilmes bacterianos rompidos após a instrumentação do canal radicular, com os efeitos da pasta de hidróxido de cálcio (CH) que apresenta um maior teor de íons cálcio (Ca⁺) e hidroxila (OH⁻) poderiam justificar as prováveis hipóteses para as diferenças encontradas. A maior porcentagem de hidróxido de cálcio foi comprovada por LOUREIRO *et al.*, (2018) que avaliaram em um estudo *in vitro* a composição química e a radiopacidade de diferentes pastas de hidróxido de cálcio (Ultracal XS[®]; Hydropast[®] e Callen[®] e Hidróxido de cálcio p.a.) por meio de uma análise termogravimétrica. Os resultados apontaram hidróxido de cálcio P.A.: 87,12%; Ultracal XS[®]: 36,38%; Callen[®]: 50,54%, Hydropast[®]: 30,66%. Os autores concluíram que a análise da composição química e da radiopacidade das medicações utilizadas no canal radicular é importante para o entendimento do comportamento químico e biológico dessas substâncias

A desestruturação e destruição do biofilme bacteriano em áreas de complexidade anatômica como istmos, reentrâncias e ramificações ainda constitui uma temática bastante relevante no campo da pesquisa endodôntica, visto que atualmente nenhuma estratégia de sanificação provou ser efetiva na eliminação completa do biofilme (NAIR *et al.*, 2005; ESTRELA *et al.*, 2017). Apesar de já existirem muitos estudos *in vitro* e *ex vivo* com diversas propostas visando o alcance de uma eficácia antimicrobiana significativa, os resultados ainda são conflitantes ou inconsistentes, já que muitas avaliações foram realizadas em dentes unirradiculares e de menor complexidade anatômica quando comparada ao grupamento dos dentes multirradiculares (GUERREIRO *et al.*, 2015; ESTRELA *et al.*, 2015.; HOLLAND *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2018). Tal fato, motivou o estudo a avaliar a influência de diferentes protocolos de sanificação em canais radiculares curvos infectados por *E. faecalis*, cujo biofilme de 60 dias que foi desenvolvido, pudesse simular uma condição clínica de maior desafio anatômico e microbiológico. Conforme aponta ESTRELA *et al.*, 2009, períodos menores na formação de biofilmes, dificulta comparações e extrapolação dos resultados para o estabelecimento de protocolos clínicos mais

bem definidos e com vistas a maiores margens de previsibilidade no tratamento endodôntico.

A metodologia empregada que avaliou a redução bacteriana nos molares infectados por *E. faecalis*, nas sucessivas etapas operatórias (instrumentação, agitação final da solução irrigadora e medicação intracanal) envolveu duas análises, uma qualitativa por meio do método visual da turbidez do meio de cultura, e outra quantitativa através dos dados obtidos pelo espectrofotômetro UV, o que eliminou a subjetividade da análise pelo método visual. Esse método padrão e amplamente consagrado na literatura para esse tipo de avaliação, foi o de escolha, já que outros métodos, como os moleculares que utilizam uma técnica de abordagem de qPCR para quantificação de bactérias, poderia não discriminar as bactérias viáveis das não viáveis, o que levaria a possíveis erros de interpretação no efeito da viabilidade das bactérias e (ESTRELA *et al.*, 2007; ESTRELA *et al.*, 2009; NAKAMURA *et al.*, 2015; ALVES *et al.*, 2015; BAO *et al.*, 2017; ROS *et al.*, 2021). Como as coletas bacterianas realizadas por meio dos cones de papel absorvente ocorreu apenas nos canais principais dos molares inferiores, os resultados obtidos devem ser interpretados com cautela, já que esse é um procedimento que não alcança as regiões profundas das ramificações e dos túbulos dentinários (GHINZELLI *et al.*, 2014; NAKAMURA *et al.* 2015).

Ausência de uma padronização dos métodos de análise, como tipo de irrigante, a concentração, o tempo de agitação e volume da solução, bem como um tamanho amostral mínimo para evidenciar possíveis diferenças (HOCKETT *et al.*, 2008) ainda leva a evidências inconclusivas. Os desafios a serem superados com vistas ao sucesso do tratamento endodôntico envolvem o domínio da morfologia interna do canal radicular, o controle da microbiota endodôntica, as respostas imunológicas positivas do hospedeiro, além do conhecimento e habilidades do profissional (ESTRELA *et al.*, 2014).

Ainda que não tenham sido alcançado ou definido um conjunto (instrumentação, agitação final da solução irrigadora e medicação intracanal), a perfeita sanificação do sistema de canais radiculares infectados ainda se mantém como real desafio, e ensaios clínicos adicionais necessitam ser constantemente investigados, com no intuito de se avaliar os efeitos das técnicas

protocolos de sanificação frente à infecção endodôntica.

7. CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada, pode-se concluir que todos os grupos testados promoveram redução bacteriana, porém nenhum foi efetivo na completa eliminação do *E. faecalis* em canais radiculares infectados. O grupo 2 apresentou uma maior redução bacteriana (85%) quando comparado aos demais grupos após realizados o protocolo de sanificação proposto em cada grupo experimental.

REFERÊNCIAS

1. ALVES, F.R.; RÔÇAS, I.N.; ALMEIDA, B.M.; NEVES, M.A.; ZOFFOLI, J.; SIQUEIRA, J.F.JR. Quantitative molecular and culture analyses of bacterial elimination in oval-shaped root canals by a single-file instrumentation technique. **International Endodontic Journal**, v. 45, p. 871-7, 2012.
2. ALVES, F.R.F.; PAIVA, P.L.; MARCELIANO-ALVES, M.F.; CABREIRA, L.J.; LIMA, K.C., SIQUEIRA, J.F.JR.; RÔÇAS, I.N.;PROVENZANO, J.C. Bacteria and hard tissue debris extrusion and intracanal bacterial reduction promoted by XP-endo Shaper and reciproc instruments. **Journal of Endodontics**, v.44, p.1173-1178, 2018.
3. BRITO, P.R.; SOUZA, L.C.; MACHADO, J.C.O.; ALVES, F.R.; DE-DEUS, G.; LOPES, H.P.; SIQUEIRA, J.F.JR.; Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an in vitro study. **Journal of Endodontics**, v. 35(10):1422-7, 2009.
4. ESTRELA, C., SYDNEY, G.B., BAMMANN, L.L., FELIPPE, JR. O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. **Brazilian Dental Journal**. 6(2):85-90, 1995;
5. ESTRELA, C.; BAMMANN, L.L., PIMENTA, F.C., PÉCORÁ, J.D. CONTROL OF MICROORGANISMS IN VITRO BY CALCIUM HYDROXIDE PASTES. **International Endodontic Journal**, 34:341-5, 2001;
6. ESTRELA, C.; SYDNEY, G.B.; FIGUEIREDO, J.A.; ESTRELA, C.R.; Antibacterial efficacy of intracanal medicaments on bacterial biofilm: a critical review. **Journal Applied Oral Science**, v. 17(1), p.1-7, 2009.
7. ESTRELA, C.; SYDNEY, G.B.; FIGUEIREDO, J.A.; ESTRELA, C.R.A. A model system to study antimicrobial strategies in endodontic biofilms. **Journal Applied Oral Science**, v.17(2): p.87-91, 2009.
8. ESTRELA, C., HOLLAND, R., ESTRELA, C.R.A, ALENCAR, A.H., SOUSA-NETO, M.D., PÉCORÁ, J.D. Characterization of successful root canal treatment. **Brazilian Dental Journal**, v. 25, p.3-11, 2014.
9. GLUSKIN, A.H. Anatomy of an overfill: a reflection on the process. **Endodontic Topics**, v.16, p. 64-81, 2007.
10. GUERREIRO-TANOMARU JM, CHÁVEZ-ANDRADE GM, DE FARIA-JÚNIOR NB, WATANABE E, TANOMARU-FILHO M. Effect of passive ultrasonic irrigation on *Enterococcus faecalis* from root canals: an ex vivo study. **Brazilian Dental Journal**, v. 26(4):342-6, 2015
11. HAAPASALO, M.; QIAN W.; PORTENIER, I.; WALTIMO, T.; Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. **Journal of Endodontics**, v.33, n.8, p. 917-25, 2007.
12. HOCKETT, J.L.; DOMMISCH, J.K.; JOHNSON, J.D.; COHENCA, N. Antimicrobial efficacy of two irrigation techniques in tapered and non-

- tapered canal preparations: an in vitro study. **Journal of Endodontics**, v.34, n.11, p.1374-7, 2008.
13. KAKEHASHI, S.; STANLEY, H. R.; FITZGERALD, R. J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 20, p. 340 - 349, 1965.
 14. KVIST, T., MOLANDER, A., DAHLÉN, G., REIT, C. Microbiological evaluation of one- and two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a randomized, clinical trial. **Journal of Endodontics**, 30(8):572-6, 2004.
 15. LOUREIRO, M.A.Z., BARBOSA, M.G., CHAVES, G.S., SIQUEIRA, P.C., DECURCIO, D.A. Avaliação da composição química e radiopacidade de diferentes pastas de hidróxido de cálcio. **Revista Odontológica do Brasil Central**, 27(80): 19-23, 2018.
 16. LOVE R.M.; *Enterococcus faecalis* – a mechanism for its role in endodontic failure. **International Endodontic Journal**, v. 34, n.5, p.399-405, 2001.
 17. MADHUSUDHANA, K.; MATHEW, V.B.; REDDY, N.M.; Apical extrusion of debris and irrigants using hand and three rotary instrumentation systems - an in vitro study. **Contemporary Clinical Dentistry**, v.1, p. 234–6, 2010.
 18. NAIR, P.N.R.; HENRY, S.; CANO, V.; VERA J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod**, v.99, p.231-52, 2005.
 19. OLIVEIRA, H.F.; ALENCAR, A.H.G.; ESTRELA, C.R.A.; DECURCIO, D.A.; SILVA J.A.; SOUSA, V.C.; ESTRELA, C. Decontamination of root canals infected with reciprocating instruments, sodium hypochlorite 2.5% and apple vinegar. **Dental Press Endodontics**, v. 8, n. 2, p.70-7, 2018.
 20. PAQUÉ, F.; LAIB, A.; GAUTSCHI, H.; ZEHNDER, M. Hard-tissue debris accumulation analysis by high-resolution computed tomography scans. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 7, p. 1044-1047, 2009.
 21. PENESIS, V.A., FITZGERALD, P.I., FAYAD, M.I., WENCKUS, C.S., BEGOLE, E.A., JOHNSON, B.R. Outcome of one-visit and two-visit endodontic treatment of necrotic teeth with apical periodontitis: a randomized controlled trial with one-year evaluation. **Journal of Endodontics**, 34(3):251-7, 2008.
 22. PETERS, O. A. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. **Journal of Endodontics**, v. 30, n. 8, p. 559-567, 2004.
 23. PORTENIER, I.; TUOMOS, M.; WALTIMO, T.; HAAPASALO, M. *Enterococcus faecalis*– the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. **Endodontic Topics**, 2003, v.6(1):135-159, 2003.
 24. SATHORN, C., PARASHOS, P., MESSER, H. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide intracanal dressing: a systematic review and meta-analysis. **International Endodontic Journal**, 40(1):2-10, 2007.
 25. SIQUEIRA, J.F., UZEDA, M. INFLUENCE OF DIFFERENT VEHICLES ON THE ANTIBACTERIAL EFFECTS OF CALCIUM HYDROXIDE. **Journal of Endodontics** 24(10):663-5, 1998.

26. SIQUEIRA, J.F.JR.; ALVES, F.R.; VERSIANI, M.A.; RÔÇAS, I.N.; ALMEIDA, B.M; NEVES, M.A.; SOUSA-NETO, M.D. Correlative bacteriologic and micro- computed tomographic analysis of mandibular molar mesial canals prepared by self-adjusting file, reciproc, and twisted file systems. **Journal of Endodontics**, v. 39, p.1044–50, 2013.
27. SOUSA, V.C.; ALENCAR, A.H.G.; ESTRELA, C.R.A.; SOUSA NETO, M.D.; DECURCIO D.A.; OLIVEIRA, H.F.; ESTRELA C. Effectiveness of Self-Adjusting File, XP- endo Finisher, and passive ultrasonic irrigation in bacterial root canal control. **Dental Press Endodontics**, v. 8, n. 2, p.62-8, 2018.
28. SOUZA, C.A., TELES, R.P., SOUTO, R., CHAVES, M.A., COLOMBO, A.P. Endodontic therapy associated with calcium hydroxide as an intracanal dressing: microbiologic evaluation by the checkerboard DNA-DNA hybridization technique. **Journal of Endodontics**, 31(2):79-83, 2005.
29. SUNDQVIST, G.; Figdor D.; Persson, S.; Sjogren, 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**, v. 84, p.86-93, 1998.
30. VERSIANI, M.A.; LEONI, G.B.; STEIER, L.; DE-DEUS, G.; TASSANI, S.; PÉCORÀ, J.D.; DE SOUSA-NETO, M,D. Micro-computed tomography study of oval- shaped canals prepared with the Self-adjusting File, Reciproc, WaveOne, and ProTaper universal systems. **Journal of Endodontics**, v. 39, p.1060-6, 2013.
31. WALTIMO, T., TROPE, M., HAAPASALO, M., ØRSTAVIK, D. Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. **Journal of Endodontics**, 31(12):863-6, 2005.
32. DECURCIO DA, ROSSI-FEDELE G, ESTRELA C,PULIKKOTIL SJ, NAGENDRABABU V. Machine-assisted agitation reduces post-operative pain during root canal treatment: a systematic review and meta-analysis from randomized clinical trials. **Journal of Endodontics**, v. 45: 387–93, 2019.
33. GU LS, KIM JR, LING J, ET AL. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. **Journal of Endodontics**, v. 35:791–804, 2009.
34. HOLLAND R, GOMES-FILHO JE, CINTRA LT, ET AL. Factors affecting the periapical healing process of endodontically treated teeth. **J Appl Oral Sci**, v. 25:465–76, 2017.
35. ESTRELA C, RABELO LE, DE SOUZA JB, ALENCAR AH, ESTRELA CR, SOUSA NETO MD, PÉCORÀ JD. Frequency of Root Canal Isthmi in Human Permanent Teeth Determined by Cone-beam Computed Tomography. **Journal of Endodontics**, v. 41(9):1535-9, 2015.



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Análise comparativa de diferentes protocolos de sanificação na redução bacteriana em molares inferiores infectados por *Enterococcus faecalis*

Prezado participante,

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, de uma pesquisa cujo título é **Avaliação do potencial de redução bacteriana de diferentes medicações intracanaís em canais radiculares infectados por *Enterococcus faecalis***, desenvolvida por Luan Carlos Gomes Teixeira, aluno do curso de Mestrado em Odontologia do Centro Universitário UniEVANGÉLICA, sob orientação do Professor Dr. Helder Fernandes de Oliveira. O uso de certas medicações e substâncias para o tratamento de canal permite um controle da infecção presente durante a execução dos procedimentos. Entretanto, é preciso saber qual é o mais eficaz para os casos de infecção.

O objetivo central do estudo é: avaliar o potencial de redução bacteriana de diferentes medicações intracanaís em canais radiculares infectados por *Enterococcus faecalis*.

Serão selecionados 80 dentes molares inferiores, cedidos por pacientes, maiores de 18 anos, provenientes das clínicas do curso de Odontologia da UniEvangélica Centro Universitário de Anápolis, e com indicação de exodontia por motivo periodontal ou protético. Os dentes serão obtidos após à leitura, compreensão e assinatura do presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE/ANEXO 1) por você, resguardando o seu sigilo quanto à sua privacidade e confidencialidade. Você não terá qualquer tipo de constrangimento para a doação de dentes extraídos cabendo a você poder desistir da doação a qualquer momento, mesmo após assinatura do TCLE, sem qualquer prejuízo para o tratamento a ser realizado no âmbito do Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica.

Os dentes extraídos serão acondicionados em frasco contendo solução de timol 0,2% (Farmácia Escola da UFG, Goiânia, GO, Brasil). Após remoção deste meio, serão imersos em hipoclorito de sódio 5% (Fitofarma, Goiânia, GO, Brasil) por 30 minutos para remoção de tecidos orgânicos na superfície externa das raízes.

Será desenvolvida nas dependências do curso de Odontologia da UniEvangélica Centro Universitário de Anápolis (Laboratório Clínica Odontológica de Ensino, primeiro andar). O que será estudado é a estrutura do instrumento preparado no dente extraído em oito grupos de experimento, analisada por meio de microscopia eletrônica de varredura.

O convite a sua participação se deve a informações importantes sobre um novo protocolo técnico para o tratamento de canal, de forma que os procedimentos endodônticos

alcancem maiores índices de sucesso nos casos de infecção.

Você será convidado a participar da pesquisa (mediante aplicação do TCLE) quando você por ocasião for submetido à cirurgia para extração de dentes com a devida indicação, e doar os molares inferiores recém extraídos.

“Sua participação é voluntária, isto é, ela não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como retirar sua participação a qualquer momento. Você não será penalizado de nenhuma maneira caso decida não consentir sua participação, ou desistir da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa.”

“Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações por você prestadas. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

“Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa e o material armazenado em local seguro”.

“A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo. A presente pesquisa experimental *ex vivo*, não haverá riscos diretos que o afetará, visto que os dentes serão extraídos por indicações pré-estabelecidas, sendo os benefícios maiores às alternativas já estabelecidas para a prevenção, o diagnóstico e o tratamento.

Qualquer risco ou dano significativo a você, participante da pesquisa, previstos, ou não, no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, quanto à sua dignidade e saúde física e moral ou mesmo ao sigilo das informações, será comunicado imediatamente, ao Sistema CEP/CONEP, e avaliado, em caráter emergencial, a necessidade de adequar ou suspender o estudo. Como não há riscos previsíveis de grande porte ou com dano irreparável, não haverá previsão de indenização.

Você será convidado a participar da pesquisa (mediante aplicação do TCLE) quando você por ocasião for submetido à cirurgia para extração de dentes com a devida indicação, e doar os molares inferiores recém extraídos.

A sua participação, como doador, nesta pesquisa não trará problemas. Os procedimentos desta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

“Ao final da pesquisa, todo material será descartado. Por se tratar de peças que se enquadram no grupo A4 de descarte de resíduos, estes serão eliminados de acordo com as normas da Resolução 306 de 2004 e da Portaria no 2.201, de 14 de setembro de 2011 que estabelece no: Art. 5o que o consentimento livre e esclarecido referente à coleta, depósito, armazenamento, utilização e descarte de material biológico humano em biorrepositório é formalizado por meio de TCLE específico para cada pesquisa, conforme o que preconizam as resoluções do CNS e as orientações do CEP/UniEVANGÉLICA”.

A presente pesquisa não trará benefícios diretos a você, por se tratar de uma pesquisa *ex vivo* (laboratorial), porém, espera-se que este estudo traga informações importantes sobre as diferentes medicações intracanais testadas e possibilitem uma maior clareza quanto a efetividade no grau de redução bacteriana e conseqüentemente um prognóstico mais promissor. O pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, sejam eles

favoráveis ou não à comunidade

Os resultados serão divulgados em palestras dirigidas ao público participante, relatórios individuais para os entrevistados, artigos científicos e na dissertação/tese. Envio do trabalho à SBPqO 2021 na forma de pôster ou apresentação oral, do qual os anais serão publicados no Brazilian Oral Research;

Assinatura do Pesquisador Responsável – (Inserção na) UniEVANGÉLICA

Contato com o(a) pesquisador(a) responsável:

Endereço: Avenida Universitária, Km 3,5 Cidade Universitária – Anápolis/GO CEP: 75083-580

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO PARTICIPANTE DE PESQUISA

Eu, _____ RG nº _____, abaixo assinado, concordo voluntariamente em participar do estudo acima descrito, como participante. Declaro ter sido devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador _____ sobre os objetivos da pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios envolvidos na minha participação. Foi-me dada a oportunidade de fazer perguntas e recebi telefones para entrar em contato, inclusive ligações a cobrar, caso tenha dúvidas. Fui orientado para entrar em contato com o CEP - UniEVANGÉLICA (telefone 3310-6736), caso me sinta lesado ou prejudicado ou em caso de dúvidas poderei chamar o pesquisador **Helder Fernandes de Oliveira** no telefone (62) 9682-2340 (inclusive ligações a cobrar).

Foi-me garantido que não sou obrigado a participar da pesquisa e posso desistir a qualquer momento, sem qualquer penalidade. Recebi uma via deste documento.

Anápolis, ____ de _____ de 20 __,

Assinatura do participante da pesquisa

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____ Assinatura: _____

Nome: _____ Assinatura: _____

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UniEVANGÉLICA:

Tel. e Fax - (0XX) 62- 33106736

E-Mail: cep@unievangelica.edu.br

