

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Leonardo dos Santos Barroso

**AVALIAÇÃO DA EXTRUSÃO DE IRRIGANTE, LIMPEZA DAS
PAREDES DENTINÁRIAS E CARGA MICROBIANA
VARIANDO OS PROTOCOLOS DE DESINFECÇÃO EM
DENTES SIMULANDO RIZOGÊNESE INCOMPLETA:
ESTUDO *IN VITRO***

Taubaté – SP
2022

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Leonardo dos Santos Barroso

**AVALIAÇÃO DA EXTRUSÃO DE IRRIGANTE, LIMPEZA DAS
PAREDES DENTINÁRIAS E CARGA MICROBIANA
VARIANDO OS PROTOCOLOS DE DESINFECÇÃO EM
DENTES SIMULANDO RIZOGÊNESE INCOMPLETA:
ESTUDO *IN VITRO***

Tese apresentada para obtenção do Título de
Doutor ao Departamento de Odontologia da
Universidade de Taubaté.
Área de Concentração: Endodontia
Orientador: Prof. Dr. Kusai Baroudi
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra Márcia
Habitante

Taubaté – SP
2022

B277a	<p>Barroso, Leonardo dos Santos</p> <p>Avaliação da extrusão de irrigante, limpeza das paredes dentinárias e carga microbiana variando os protocolos de desinfecção em dentes simulando rizogênese incompleta : estudo in vitro / Leonardo dos Santos Barroso. – 2022. 93 f. : il.</p> <p>Tese (doutorado) – Universidade de Taubaté, Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, Taubaté, 2022. Orientação: Prof. Dr. Kusai Baroudi, Departamento de Odontologia. Coorientação: Sandra Márcia Habitante, Departamento de Odontologia.</p> <p>1. Endodontia regenerativa. 2. Extrusão dentária. 3. Desinfecção. 4. Protocolo de desinfecção. 5. XP Endo Finisher. I. Universidade de Taubaté. Programa de Pós-graduação em Odontologia. II. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD – 617.634</p>
-------	---

Dedico este trabalho a meus pais, Arycélío Barroso Silva e Cilene Aparecida dos Santos Barroso, por serem meus grandes exemplos de amor e dedicação. Vocês são grandes e eu, pequeno. Eu os honro, aceito exatamente como são e tomo sua força para ir para o Mundo;

À minha esposa, Daniela Damato Bemfeito Barroso, credora de toda a minha admiração e gratidão por todo amor, incentivo, acolhimento e compreensão nos momentos de desafio ao longo de tantos anos de casamento;

A meus filhos, Laura Damato Bemfeito Barroso e Davi Damato Bemfeito Barroso, grandes professores e incentivadores de todo meu esforço para crescimento e melhoria como profissional e ser humano;

À Endodontia, ciência a qual sou apaixonado, razão da minha motivação, inspiração e transpiração.

Ao Ensino e à Pesquisa, molas mestras do desenvolvimento humano.

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor da Vida e da Criação, toda minha reverência e gratidão por tanto que me tem sido concedido na Vida! Inteligência Suprema e Amorosa que tem me conduzido por caminhos inesperados, mas maravilhosos, me fortalecendo e guiando. Sem Ele essa vitória teria sido impossível.

A meus pais por todo ensinamento e amor com que me receberam.

À minha família pelo amor, incentivo e parceria durante todos os momentos e em especial, nos desafiadores.

Ao Prof. Dr. Kusai Baroudi, por ter aceitado o desafio de me orientar na execução desse trabalho, além de toda disponibilidade, paciência e conhecimentos que compartilhou comigo ao longo da jornada.

À Prof^a. Dr^a. Sandra Márcia Habitante, exemplo de seriedade, dedicação e paixão pela Endodontia, por ter aceitado ser coorientadora. Por toda amizade, paciência, carinho, compreensão e incentivo durante a execução da presente pesquisa.

Ao Prof. Dr. José Roberto Cortelli pela dedicação e competência com que coordena os trabalhos da Pós-Graduação em Odontologia *stricto sensu* da Universidade de Taubaté.

À Prof^a. Dr^a. Laís Regiane da Silva Concílio por todos os ensinamentos e oportunidades de crescimento ao longo do curso de Pós-Graduação. Também agradeço muito por sua paciência, incentivo, carinho e acolhimento nos momentos desafiadores.

Ao Prof. Marcos Roberto Furlan pela disponibilidade, paciência e atenção em realizar as análises estatísticas do presente trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Adriana Marques Nunes pela disponibilidade, incentivo e participação importante em todas as etapas do presente trabalho e em especial nas análises de microscopia eletrônica de varredura.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté-SP (UNITAU) por toda amizade e conhecimentos compartilhados.

Ao Centro Universitário de Volta Redonda-RJ (UNIFOA) e à Fundação Osvaldo Aranha (FOA) por me permitirem fazer o que tanto amo: lecionar e pesquisar. Gratidão pelos laboratórios, equipamentos e toda a infraestrutura necessária para a realização do presente trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Rosileia Chain Hartung Habibe, coordenadora do Curso de Odontologia do UNIFOA, pelo incentivo e disposição em nos possibilitar realizar esse sonho.

Ao Prof. Claudio Melo, responsável pelo Estágio Supervisionado do Curso de Odontologia do UNIFOA, pelo apoio, incentivo e compreensão durante o período de realização do presente estudo.

À Prof^a. Dr^a. Rosy de Oliveira Nardy, pela amizade, carinho, exemplos e grande incentivo para o desenvolvimento de minha carreira profissional.

À Universidade Federal Fluminense (UFF) por permitir a utilização da metalizadora com fins de preparar as amostras para a análise em microscopia eletrônica de varredura.

Ao Núcleo Endo, empresa da qual sou sócio proprietário, por todo incentivo e infraestrutura de suporte, que muito me orgulha por ser uma belíssima oportunidade na qual posso atender meus pacientes e lecionar para nossos alunos.

À graduanda de Odontologia Milena Nascimento de Paula, parceira incansável durante toda a fase laboratorial de execução do presente projeto. Por toda sua dedicação, seriedade, compromisso, boa vontade e alto-astral. Um futuro brilhante a espera!

À Profa. Miriam Salles Pereira por toda assistência e boa vontade nas consultorias sobre Microbiologia.

A Dirceu Hartung de Camargo Coutinho por toda assistência, disponibilidade e fundamental acompanhamento nas atividades do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do UNIFOA.

À Nicololy Faria Viana, por toda disponibilidade e assistência no Laboratório de Microbiologia do UNIFOA.

Aos colegas da Pós-Graduação em Odontologia da UNITAU por toda amizade, incentivo e convivência respeitosa e leve ao longo da caminhada.

Aos meus pacientes, por toda confiança, incentivo e oportunidades que me concedem de exercer essa linda profissão que é a Odontologia.

Aos meus alunos, ex-alunos e futuros alunos de graduação e pós-graduação, por serem verdadeiro combustível para me manter no caminho, perseguindo o objetivo de concluir essa etapa e buscar aprimoramento contínuo.

**Nossa maior fraqueza está em desistir. O caminho
mais certo de vencer é tentar mais uma vez.**

Thomas Alva Edison

**Siga sua felicidade e o Universo abrirá portas
onde antes somente existiam paredes.**

Joseph Campbell

BARROSO, LS. Avaliação da extrusão de irrigante, limpeza das paredes dentinárias e carga microbiana variando os protocolos de desinfecção em dentes simulando rizogênese incompleta: estudo *in vitro* [Tese de Doutorado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2022. 93p.

RESUMO

Objetivo: realizar a análise de extrusão de irrigante, grau de limpeza das paredes radiculares e redução de carga microbiana de dois métodos experimentais de limpeza mecânica, Escova Profilática para conduto® (MK Life) e *microbrush* Aplik Extrafino® (Angelus), comparando-os com dois consagrados para endodontia regenerativa, lima K n° 50 (Dentsply Syrona) e XP Endo Finisher® (FKG Dentaire). **Método:** setenta pré-molares inferiores unirradiculares foram padronizados em mesmo tamanho e diâmetro de conduto. Para a análise de extrusão, 16 espécimes foram pesados antes e depois da realização do procedimento endodôntico com 5 mL de NaOCl a 2,5% a 36,5°C, variando-se o recurso mecânico de acordo com o descrito acima (n=16), em experimento com tempo padrão. Os resultados foram transformados para mL e avaliados pelo teste Kruskal Wallis. Em seguida, os mesmos 16 dentes foram preparados para avaliação no MEV por dois observadores independentes, de acordo com um critério estabelecido de *scores*. À variação do recurso mecânico e à irrigação com NaOCl foi adicionado o uso de 5 mL de EDTA a 17% (n=4, para cada instrumento). Um controle positivo apenas com irrigação passiva e um negativo, sem procedimento foram realizados. Para avaliação de redução de carga microbiana, foi induzida a contaminação por *Enterococcus faecalis* durante 21 dias em 50 espécimes e dois foram usados como controle negativo, sem contaminação. Em cada grupo foi utilizada a irrigação com solução salina a 36,5°C, onde se variou o recurso mecânico para a limpeza (n=12). Contagem de colônias (UFC) foi realizada antes (S1) e depois (S2) do procedimento de limpeza. Dois espécimes foram usados como controle positivo, apenas com irrigação passiva. As diferenças entre S2 e S1 foram contabilizadas e análise pelo teste de Kruskal Wallis foi realizada. **Resultados:** Não houve diferenças entre os grupos em relação a extrusão de irrigantes. Para análise por MEV não houve diferença entre os grupos (p=0,3053). Da mesma maneira, para redução de carga microbiana os recursos se equivaleram e não houve diferença significativa (p=0,3616). **Conclusões:** Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em nenhum dos experimentos realizados. Os recursos experimentais Escova Profilática para conduto® e *microbrush* Aplik Extrafino® se equivaleram aos tradicionais lima K n° 50 e XP Endo Finisher®.

Palavras-chave: Endodontia regenerativa; XP Endo Finisher®; Protocolo de desinfecção; Extrusão; Desinfecção.

BARROSO, LS. Evaluation of irrigant extrusion, cleaning of dental walls and microbial load varying disinfection protocols in immature permanent teeth: an in vitro study. [Tese de Doutorado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2022. 93p.

ABSTRACT

Aim: to assess irrigant extrusion, degree of cleaning of the root walls and reduction of microbial load of two experimental methods of mechanical cleaning, Prophylactic Brush for canals (MK Life) and microbrush Aplik Extrafine (Angelus), comparing with two recognized ones for regenerative endodontics: K file n° 50 (Dentsply Syrona) and XP Endo Finisher® (FKG Dentaire) **Method:** seventy single-rooted lower premolars were standardized in length and canal diameter. For the extrusion analysis, 16 specimens were weighed before and after the endodontic procedure with 5 mL of 2.5% NaOCl at 36.5°C, varying the mechanical resource as described above (n= 16), in a standard time experiment. The results were converted to mL and evaluated by the Kruskal Wallis test. Then, the same 16 teeth were prepared for evaluation in SEM by two independent observers, according to an established criteria of scores. To the variation of the mechanical resource and the irrigation with NaOCl, the use of 5 mL of 17% EDTA (n=4, for each instrument) was added. A positive control only with passive irrigation and a negative control without procedure were performed. To assess the microbial load reduction, contamination by *Enterococcus faecalis* was induced for 21 days in 50 specimens and two were used as negative controls, without contamination. In each group, irrigation with saline solution at 36.5°C was used, where the mechanical resource for cleaning was varied (n=12). Colony counting (CFU) was performed before (S1) and after (S2) the cleaning procedure. Two specimens were used as a positive control, with only passive irrigation. Differences between S2 and S1 were registered and analysis by the Kruskal Wallis test was performed. **Results:** For the extrusion of irrigants, there was no difference among groups. For SEM analysis, there was no difference among the groups (p=0.3053). Likewise, for microbial load reduction, the resources were equivalent and there was no significant difference (p=0.3616). **Conclusions:** There was no statistically significant difference between the groups in any of the experiments.

Keywords: Regenerative endodontics; XP Endo Finisher®; Disinfection Protocol; Extrusion; Disinfection.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 A Endodontia Regenerativa – definição e breve histórico.....	17
2.2 Influência da infecção no êxito do procedimento regenerativo	20
2.3 Desafios da Desinfecção Endodôntica em procedimentos regenerativos	21
2.4 Recursos mecânicos para Endodontia Regenerativa	24
3 PROPOSIÇÃO	35
4 MÉTODO	36
4.1 Aspectos éticos.....	36
4.2 Seleção das amostras	36
4.3 Cálculo amostral	36
4.4 Análise de extrusão de irrigante	38
4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	41
4.6 Análise de redução da carga microbiana.....	46
4.7 O procedimento endodôntico.....	48
4.8 Análise estatística.....	59
5 RESULTADOS	60
5.1 Análise da extrusão de irrigante	60
5.2 Análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	59
5.3 Análise da redução de carga microbiana.....	62
6 DISCUSSÃO	64
7 CONCLUSÕES	79
REFERÊNCIAS	82
APÊNDICE	86
ANEXO	87

1 INTRODUÇÃO

A maior prevalência de trauma está na faixa etária de 6 a 13 anos de idade, bem como a presença de cáries (Bukhari et al., 2016). O manejo endodôntico de dentes permanentes jovens é um desafio para os clínicos da área, bem como um problema de saúde pública (Diogenes et al., 2013). No Brasil, de janeiro a novembro de 2021, 29.808 crianças na faixa etária de dentição mista foram referenciadas para tratamento endodôntico na rede pública (Ministério da Saúde, 2021).

A paralisação do processo de formação radicular deixa como consequência uma expressiva limitação estrutural, já que as paredes radiculares permanecem delgadas e fragilizadas para resistir aos esforços mastigatórios. Reativar o processo de desenvolvimento radicular tem grande importância em aumentar a vida útil do elemento dentário, fazendo com que suas raízes ganhem estrutura, robustez e resistência tanto em termos de comprimento adequado, como em espessura de paredes. Tal pensamento tem grande impacto na restaurabilidade e longevidade dos dentes permanentes imaturos acometidos pela necrose pulpar (Iwaya et al., 2001; Banchs & Trope, 2004, Shah et al., 2008; Jeeruphan et al., 2012; Diogenes et al., 2013).

Endodontia Regenerativa é o conjunto de procedimentos que tem por objetivo promover a recomposição do tecido pulpar necrosado por processos cariosos e/ou traumatismo. Foi desenvolvida baseada nos princípios de Engenharia Tecidual que tem como pilares três importantes fatores: célula-tronco, matriz nutricional e ambiente (Galler et al., 2016). Seu foco inicial foi direcionado para dentes permanentes jovens, de ápice aberto, cujo processo de desenvolvimento radicular foi paralisado em função do colapso do tecido pulpar, decorrente de lesão cariiosa ou traumatismo dentário que propiciou a contaminação da área do sistema de canais

radiculares com presença microbiana (Shah et al., 2008, Ricucci & Siqueira, 2010, Diogenes et al., 2013).

Em linhas gerais, para obtenção do sucesso, o procedimento deve cumprir a realização de três importantes etapas: 1- máxima desinfecção possível da área dos canais radiculares; 2- a formação de uma matriz nutricional dentro do sistema de canais; que pode ser estabelecida por meio da indução de um sangramento na papila apical ou injeção de hemoderivados como PRP ou PRF; 3- o selamento da área de entrada do canal com material biocerâmico e posterior restauração coronária (Torabinejad & Faras, 2012; Galler et al., 2016, Lin et al., 2017; Chrepa et al., 2020).

No que tange ao aspecto de desinfecção, de vital importância para o sucesso da terapia, pois a presença microbiana por si só é um importante impeditivo ao processo de estabelecimento e diferenciação celular das células mesenquimais indiferenciadas que darão origem ao novo tecido (Wang et al., 2010; Gomes-Filho et al., 2013; Lin et al., 2014; Vishwanat et al., 2017, Cameron et al., 2019). Contudo, o desafio se encontra na impossibilidade de realização de um preparo mecânico vigoroso com vistas a desorganizar e neutralizar a matéria orgânica, bem como o biofilme bacteriano, em virtude de poder fragilizar ainda mais paredes já naturalmente finas e delicadas. Embora alguns autores sugiram o contrário (Nosrat et al., 2013; Soares et al., 2013). Assim, a maioria dos protocolos se baseia muito na irrigação copiosa de substâncias químicas que tenham ação de dissolução tecidual e antimicrobiana. A intenção é que o alto fluxo e refluxo de irrigantes promovam seu arraste mecânico e favoreçam a ação de desinfecção com suas propriedades químicas (AAE, 2016).

Um fato demonstrado na literatura é que a irrigação é eficaz para eliminar as células superficiais do biofilme bacteriano, bem como as que se encontram livres no canal radicular, na sua forma planctônica. Contudo, a grande preocupação é a presença bacteriana no interior dos túbulos dentinários e nas camadas mais profundas e aderidas do biofilme (Ricucci & Siqueira, 2010; Becerra et al., 2014; Kontakiotis et., 2015; Latham et al., 2016; Lin et al., 2017). Kim (2016), observou que a presença bacteriana além de ser diretamente prejudicial ao novo tecido a ser induzido, degrada a dentina e altera sua microestrutura dificultando a adesão e proliferação das células mesenquimais indiferenciadas advindas da papila apical no procedimento regenerativo. Conseqüentemente, o uso de medicação intracanal tem sido recomendado, na intenção de eliminar tal contaminação. A utilização de pasta à base de antibióticos tem sido sugerida em alguns protocolos como parte do esforço para se maximizar a desinfecção (Iwaya et al., 2001; Banchs & Trope, 2004; Windley et al., 2005, Kahler et al., 2014; Bukhari et al., 2016). Todavia, tal uso pode ter conseqüências funestas sobre as células-tronco da papila apical na medida em que foi demonstrado que tais substâncias podem ser tóxicas, dependendo da concentração utilizada (Lin et al., 2014; Gonçalves et al., 2016; Chaniotis, 2017; Cameron et al., 2019). O hidróxido de cálcio tem sido apresentado como alternativa ao uso de pastas antibióticas, por ser menos lesivo às células que darão origem ao novo tecido (Soares et al., 2013; Kahler et al., 2014; Latham et al., 2016). De qualquer maneira, a utilização de pastas à base de antibióticos ou hidróxido de cálcio implica na sua remoção, na consulta seguinte de indução do sangramento ou colocação de hemoderivado como *scaffold*, e é necessário que a dentina esteja limpa, com os túbulos aparentes e os fatores de crescimento expostos, favorecendo

a adesão e proliferação das células do novo tecido a ser formado (Martin et al., 2013; Turkaydin et al., 2017; Elnaghy et al., 2017).

Novamente, um recurso mecânico que facilite a remoção de tais substâncias da intimidade da dentina, sem desgastá-la, se faria necessário e novamente a irrigação copiosa, por meio de diversos dispositivos, tem sido preconizada para tal tarefa, já que o preparo mecânico convencional vem sendo contraindicado na maioria dos protocolos de procedimentos endodônticos regenerativos. Há que se pensar que outra limitação anatômica de dentes com desenvolvimento radicular incompleto é a presença de um forame apical amplo o suficiente para favorecer a eventual extrusão de irrigantes, o que também é prejudicial para as células-tronco da papila apical e pode ser até perigoso para a saúde do paciente, dependendo do volume extravasado de líquido e do tipo do irrigante. Assim, buscar métodos mecânicos de favorecimento da limpeza das paredes dos canais radiculares que não ataquem a superfície, fragilizando-a, é importante para se garantir maior eficácia e segurança para a realização do procedimento, já que menor volume de irrigação pode ser utilizado.

Outro desafio a ser enfrentado é o custo dos instrumentos. É interessante que recursos economicamente mais acessíveis sejam pesquisados, com intuito de favorecer sua utilização na rede pública, alcançando um número maior de pacientes. E não menos importante é que tais recursos sejam de fácil utilização, objetivando multiplicar esse conhecimento por meio de treinamentos com baixa curva de aprendizado e curto tempo de implantação.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi analisar quatro técnicas mecânicas de preparo do canal, sendo duas consagradas no meio endodôntico: lima K n° 50 (Dentstly Syrona) e XP Endo Finisher® (FKG Dentaire), com duas

experimentais: microbrush Aplik Extrafino® (Angelus) e Escova Profilática para conduto® (MK Life). Foram realizadas análises quanto à extrusão de irrigantes, grau de limpeza proporcionado à superfície das paredes radiculares e capacidade de redução da carga microbiana. Tem-se como hipótese que tais recursos experimentais sejam tão efetivos ou demonstrem até melhor desempenho que os instrumentos conhecidos, contribuindo com a introdução de métodos mais acessíveis e que promovem menor desgaste das paredes dos canais radiculares de dentes permanentes jovens com ápice aberto.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A Endodontia Regenerativa – definição e breve histórico

Em 2016, a *European Society of Endodontology* (ESE) e a *American Association of Endodontists* (AAE), definiram a Endodontia Regenerativa como:

O conjunto de procedimentos biologicamente baseados, com sinônimos como terapia endodôntica regenerativa, revascularização pulpar, revitalização pulpar, que objetiva a regeneração de tecido similar à polpa dentro do canal radicular, depois de se induzir um influxo de células-tronco vindas da papila apical. (Galler et al. 2016, p. 717)

A ideia de regenerar o tecido pulpar necrosado não é nova. Nygaard-Ostby (1961) desenvolveu um estudo em humanos, no qual 17 dentes com condições de polpa viva e necrose pulpar foram submetidos a tratamento endodôntico com alargamento foraminal, colocação de medicação intracanal, indução de sangramento, com posterior obturação endodôntica. Os dentes foram extraídos e processados para análise histológica e foi identificada a deposição de um novo tecido conjuntivo mineralizado, com conseqüente reparo das áreas de destruição apical.

RULE & WINTER (1966) introduziram o conceito de controle da infecção endodôntica por meio da utilização de uma pasta poliantibiótica e, embora não tenham induzido sangramento apical, determinaram um comprimento de trabalho 3 mm aquém do vértice radiográfico com a intenção de deixar tecido pulpar vital na região foraminal. Os dentes foram extraídos e resultado semelhante ao de Nygaard-Ostby (1961) foi observado: presença de tecido conjuntivo mineralizado e resolução da inflamação apical.

NYGAARD-OSTBY & HJORTDAL (1971) observaram que o sangramento induzido no tecido periapical em dentes durante o tratamento endodôntico deu origem à deposição de um tecido conjuntivo fibroso mineralizado com características de cimento às paredes do canal radicular manipulado.

Um hiato de 30 anos se estabelece e em 2001, Iwaya et al., (2001) publicaram o primeiro relato de caso em uma pioneira abordagem endodôntica regenerativa foi aplicada. O caso se tratou de um pré-molar inferior jovem com necrose pulpar confirmada por testes de vitalidade e fístula ativa, drenando secreção purulenta. Radiograficamente havia destruição óssea apical e reabsorção/desorganização da região apical com formação incompleta radicular. Os procedimentos de dois passos consistiram primeiro da abertura coronária e devida desinfecção com soluções irrigantes à base de hipoclorito de sódio (NaOCl), associados à leve ação mecânica de instrumentos, bem como a colocação de uma pasta contendo dois medicamentos antibióticos (ciprofloxacino e metronidazol) com fins de potencializar a desinfecção conseguida. Na segunda etapa, 21 dias depois da consulta inicial, sendo constatada a remissão dos sintomas e fechamento da fístula, o dente foi reaberto para remoção da pasta antibiótica e a indução de um sangramento três milímetros (mm) além da região foraminal da raiz. O sangramento teve o objetivo de permitir a migração de células mesenquimais indiferenciadas da papila apical para dentro do ambiente do canal radicular. Sobre o coágulo, material biocerâmico à base de MTA foi colocado com vistas a selar e proteger a entrada do conduto. Após 30 meses de acompanhamento, o aspecto radiográfico mostrou considerável aumento da espessura das paredes e fechamento apical radicular, com alongamento do comprimento da raiz e resolução da destruição tecidual apical.

BANCHS & TROPE (2004) também publicaram relato de caso clínico usando abordagem semelhante. Também um pré-molar inferior com um tubérculo fraturado e uma pequena área de exposição dentinária, necrose pulpar e fístula lingual foi tratado endodonticamente em duas etapas. O aspecto radiográfico demonstrava claramente se tratar de um dente com desenvolvimento radicular incompleto e

grande área de destruição tecidual apical. Na primeira consulta foi realizada cirurgia de acesso, isolamento absoluto e irrigação copiosa com hipoclorito de sódio a 5,25% e em seguida clorexidina a 2%, com a agulha de irrigação no comprimento de trabalho de 1 mm aquém do vértice radicular. Em seguida, uma pasta contendo três antibióticos (ciprofloxacino, metronidazol e minociclina) foi introduzida e permaneceu por 26 dias. Na segunda consulta, com a remissão dos sinais e sintomas, novo isolamento foi estabelecido e após remoção da medicação, um sangramento apical foi induzido 3 mm além do comprimento de trabalho. Um coágulo foi estabelecido abaixo da junção cimento-esmalte e material biocerâmico foi colocado. O dente foi restaurado com resina composta e um programa de acompanhamento e controle clínico-radiográfico passou a ser desenvolvido. Após 24 meses, os exames clínicos e radiográficos mostraram completa remissão de sinais e sintomas, bem como término da formação radicular.

Ao longo dos anos inúmeros relatos de caso, descrições de séries de casos clínicos, estudos de coorte foram publicados, faltando, no entanto, ensaios clínicos controlados e randomizados para fornecer maior evidência científica à aplicação do protocolo (Kahler et al., 2014). Mesmo assim, Shah et al., (2008), Chen et al., (2011), Jeeruphan et al., (2012) e Bukhari et al. (2016), em estudos clínicos retrospectivos, relataram índices de sucesso clínico variando entre 75% a 80%, quando da aplicação do protocolo regenerativo. Kahler et al. (2014) observaram que, a despeito da ausência de evidência científica mais robusta e da definição de um único protocolo para a condução de pesquisas clínicas, ainda assim o procedimento regenerativo passou a ser recomendado como alternativa e consentimento esclarecido pela *European Society of Endodontology* (ESE) e pela *American Association of Endodontists* (AAE) como tratamento de primeira escolha.

2.2 Influência da infecção no êxito do procedimento regenerativo

KIM (2016) afirmou que a presença de contaminação microbiana no interior dos canais radiculares mantém ativadas respostas pró-inflamatórias dos tecidos apicais que podem influenciar o desfecho do procedimento regenerativo, favorecendo mais a instalação de um processo reparativo, ao invés de regenerativo.

LIN et al. (2017) ao realizarem análise histológica e histobacteriológica de um caso de insucesso da abordagem regenerativa pulpar, observaram que o novo tecido formado não se tratava de polpa, mas sim cimento aderido às paredes internas do canal, com densa massa de microrganismos aderida às paredes do conduto na região apical, bem como grande infiltração microbiana no interior dos túbulos dentinários. Modelos experimentais desenvolvidos em animais também obtiveram o mesmo achado histológico (Wang et., 2010; Gomes-Filho et al., 2013; Becerra et al., 2014).

VISHWANAT et al. (2017), observaram que a presença residual de um biofilme bacteriano de *Enterococcus faecalis* foi capaz de induzir alterações fenotípicas em células-tronco da papila apical (SCAP), estimulando sua diferenciação em osteoblastos. Tais achados levaram os autores a crer que o sucesso em se conseguir a indução de novo tecido pulpar depende de vários aspectos que necessitam ser rigorosamente atendidos, especialmente no que tange ao controle microbiológico.

Vários estudos relataram que a presença de contaminação microbiana interfere sobremaneira no sucesso do procedimento e na qualidade e tipo do novo tecido que será gerado, quando da realização da migração das células-tronco vindas da papila apical e que os métodos de desinfecção ainda são limitados e falhos para

se conseguir a plena neutralização da presença bacteriana e de seus subprodutos (Lin et al., 2014; Kim, 2016; Lin et al., 2017; Chaniotis, 2017).

CAMERON et al. (2019) em experimento laboratorial, observaram que a presença de biofilme bacteriano aderido às paredes do canal radicular de dentes humanos diminuiu a liberação de moléculas de fatores de crescimento do interior da dentina. Tal fenômeno pode interferir negativamente no sucesso do procedimento regenerador.

CHREPA et al. (2020) avaliaram o desfecho clínico de 51 dentes permanentes jovens com ápice aberto portadores de necrose pulpar, destruição óssea apical e paralisação do processo de formação radicular, tratados com procedimentos de endodontia regenerativa entre 2008 e 2018 na clínica de pós-graduação em endodontia da Universidade de San Antonio, Texas (EUA). Concluíram que a taxa de sucesso foi de 82% e enfatizaram a importância do controle microbiano para o sucesso da terapia, bem como a necessidade de recursos que agreguem maior efetividade ao processo.

MARTIN et al. (2013) publicaram um relato de caso clínico de um molar inferior de um garoto de 9 anos de idade, submetido a procedimento regenerativo em que Plasma Rico em Plaquetas (PRP) foi utilizado como matriz nutricional (*scaffold*). Na descrição da técnica, os autores relataram a utilização sequencial de limas manuais K, de numeração ISO 30 e 40, objetivando promover o debridamento mecânico dos canais.

2.3 Desafios da Desinfecção Endodôntica em procedimentos regenerativos

É de consenso entre vários autores que dos maiores desafios enfrentados durante a manipulação de dentes permanentes imaturos com formação radicular incompleta é a fase de preparo do canal radicular (Nygaard-Ostby & Hjortdal, 1971;

Iwaya et al., 2001; Banchs & Trope, 2004; Shah et al., 2008; Jeeruphan et al., 2012; Kahler et al., 2014; AAE, 2016). Ricucci & Siqueira (2010) demonstraram histologicamente que em função da necrose pulpar, desenvolve-se aderido à parede do canal radicular e infiltrado na intimidade dos túbulos dentinários, um biofilme bacteriano repleto de diferentes espécies que agem em sua maioria em mecanismo sinérgico, promovendo a irritação e destruição dos tecidos apicais, bem como a mobilização das defesas orgânicas e formação de quadro inflamatório/infeccioso. Remover e desorganizar tal biofilme são tarefas que exigem a aplicação de dois importantes recursos: o químico e o mecânico (Lin et al., 2014). O químico tem o propósito de agir neutralizando e dissolvendo o conteúdo orgânico da microbiota e ainda promover o arraste mecânico das partículas e células microbianas colocadas em suspensão pela ação de raspagem do instrumento. O mecânico objetiva agir raspando, rompendo, removendo, deslocando e colocando em suspensão a matéria orgânica e a microbiota aderidas à parede do sistema de canais (Zehnder, 2006; Chen et al., 2011; Lin et al., 2014; Gazzaneo et al., 2019). Contudo, tal ação de raspagem implica na remoção de estrutura da parede, o que pode ser preocupante por se tratar de um dente permanente imaturo, em fase de desenvolvimento radicular incompleto e, portanto, com pouca espessura remanescente de paredes. O preparo mecânico convencional pode tornar mais frágil uma estrutura já naturalmente vulnerável (Nygaard-Ostby & Hjortdal, 1971; Iwaya et al., 2001; Shah et al., 2008; AAE, 2016).

A solução tem sido investir em protocolos de utilização de substâncias químicas com o objetivo de promover limpeza e sanificação de tais canais amplos, com vistas a promover um ambiente adequado ao novo tecido a ser formado (Shah

et al., 2008; Chen et al., 2011; Jeeruphan et al., 2012; Diogenes et al., 2013; Diogenes et al., 2016; Latham et al., 2016; Zeng et al., 2016; Zizka et al., 2017).

A fase de preparo do canal radicular é a etapa na qual se realiza o debridamento da matéria orgânica necrosada, bem como a desorganização e remoção do biofilme bacteriano, agindo mecanicamente com instrumentos e quimicamente com substâncias irrigadoras que tenham atividade antimicrobiana e de dissolução das matrizes orgânicas e minerais. Contudo, promover o preparo químico-mecânico em dentes com rizogênese incompleta constitui-se em verdadeiro desafio devido a pouca espessura das paredes radiculares e à grande abertura da região foraminal, o que pode favorecer o extravasamento de tais soluções para os tecidos periapicais (Banchs & Trope, 2004; Windley et al., 2005; Shah et al., 2008; Soares et al., 2013; Kahler et al., 2014; Bukhari et al., 2016; AAE, 2016).

Em tratamentos endodônticos convencionais, a ação mecânica de instrumentos visa promover o alargamento do espaço do conduto radicular, removendo dentina contaminada e promovendo a desorganização do biofilme bacteriano, bem como criando o adequado espaço para o preenchimento que será realizado na etapa de obturação (Ricucci & Siqueira, 2010; Nosrat et al., 2013; Martin et al., 2013; Soares et al., 2013). No entanto, em dentes imaturos, com ápice aberto, o alargamento não só deve ser evitado, sob pena de enfraquecer ainda mais a já frágil estrutura remanescente, mas também porque há o risco de se promover rupturas e comunicações entre o conduto e o periodonto, agravando ainda mais o quadro infeccioso (Kim, 2016). Sendo assim, desenvolver abordagens apropriadas com instrumentos que possibilitem a ação mecânica e química, sem, contudo, interferir na resistência estrutural do remanescente radicular e promover a passagem de tais soluções para os tecidos apicais é de fundamental importância para a

maximização da desinfecção a ser conseguida e manutenção da integridade dos tecidos periapicais (Nygaard-Ostby, 1963; Nygaard-Ostby & Hjortdal, 1971; Myers & Montgomery, 1991; Iwaya et al., 2001; Banchs & Trope, 2004; Kahler et al., 2014; Lin et al., 2014; Reis et al., 2020, Hristov et al., 2020; Magni et al., 2021).

2.4 Recursos mecânicos para desinfecção em Endodontia Regenerativa

2.4.1 Lima K

NOSRAT et al. (2013) relataram um caso clínico de uma paciente de 8 anos de idade, na qual o dente 11 sofreu um trauma com consequente fratura de ângulo incisal e necrose pulpar. Radiograficamente a imagem sugeria que o desenvolvimento radicular estava incompleto e, portanto, protocolo regenerativo foi realizado com a utilização de uma pasta antibiótica à base de amoxicilina. Durante o relato da técnica, os autores deixaram clara a utilização de lima K nº 60, em suaves movimentos de raspagem, em conjunto com solução de hipoclorito de sódio a 2,5%, para promover o preparo químico-mecânico do sistema de canais radiculares.

SOARES et al. (2013) descreveram um caso clínico de uma paciente de 9 anos de idade, com trauma no dente 21 e consequente necrose pulpar, com aspecto radiográfico de ápice aberto, no qual um protocolo regenerativo foi utilizado com gel de clorexidina a 2% em conjunto com uma sequência de instrumentação mecânica com limas K nº45, 50 (Figura 1) e 55 com fins de produzir a desinfecção do sistema de canais radiculares. Os autores justificaram que a sequência teve o objetivo de se concentrar mais em terços cervical e médio, produzindo um formato cônico que tornasse mais fácil a introdução da medicação intracanal a ser usada (gel de clorexidina a 2% com hidróxido de cálcio), além de promover melhor desorganização e ruptura do biofilme bacteriano.



Figura 1 – Lima k nº 50 – (Dentsply Syrona)

Dentes imaturos com ápice aberto possuem condutos amplos, pois a formação radicular ainda não está completa. O ideal seria utilizar-se de um instrumento que pudesse tocar na maior área possível de superfície da parede do canal radicular, porém sem remover estrutura, como acontece na limagem convencional (Lin et al., 2014; Kontakiotis et al., 2015, Hristov et al., 2020; Chandram et al., 2021).

HRISTOV et al. (2020) realizaram um estudo *in vitro* comparativo no qual analisaram a perda de estrutura dentinária pós-instrumentação em dentes permanentes jovens, usando microtomografia computadorizada. Os autores compararam limagem convencional com o uso do instrumento XP Endo-Finisher e uma escova acionada por ultrassom de nome GentleBrush. Os resultados mostraram que a utilização de limas manuais reduziu a espessura de parede radicular 200% mais, quando comparado com XP Endo Finisher® e GentleBrush. Não houve diferenças significantes quando se comparou o XP Endo Finisher® e a GentleBrush.

2.4.2 XP Endo Finisher®

ELNAGHY et al. (2017) avaliaram a capacidade do XP Endo Finisher®®, Endo Activator® e limas K na remoção de debris e *smear layer* pós-preparo de condutos radiculares curvos, promovendo a agitação da solução irrigante. Utilizaram a microscopia eletrônica de varredura para realizar a análise dos resultados e observaram que tanto XP Endo Finisher®®, quanto Endo Activator® apresentaram paredes do canal mais limpas, livres de debris e com maior quantidade de túbulos dentinários expostos. A limagem convencional foi a que forneceu piores resultados, com grossa camada de debris acumulada na superfície dentinária. Foi realçada a importância da característica do instrumento XP Endo Finisher® em produzir a ativação mecânica da irrigação e o conseqüente turbilhonamento do líquido.

TURKAYDIN et al. (2017) testaram a habilidade de alguns recursos mecânicos na remoção de medicação intracanal colocada após preparo dos canais radiculares. O estudo comparou a XP Endo Finisher® com os recursos de ativação ultrassônica passiva (PUI) e irrigação passiva convencional e seus resultados demonstraram que a menor quantidade residual foi encontrada nos espécimes do grupo em que a XP Endo Finisher® foi utilizada.

VAZ-GARCIA et al. (2018) analisaram as propriedades mecânicas do instrumento XP Endo® Finisher e descreveram algumas características interessantes que possibilitam ao instrumento se encaixar no conceito de preparo tridimensional do sistema de canais. A haste é fabricada em liga de níquel-titânio MAXWIRE® (Martensite-Austenite Electropolish Flex – FKG Dentaire), onde a mesma em temperatura ambiente se encontra com sua microestrutura na fase martensítica e formato retilíneo. No entanto, ao entrar em contato com a temperatura corporal (36,5°C), provoca a transição para a fase austenítica, e o formato da porção final do

instrumento se altera, assumindo uma curvatura semelhante a uma colher. Tal liga sofre um tratamento térmico que induz uma memória de forma no instrumento. Embora o instrumento tenha 0,25mm de diâmetro com conicidade nula, a alteração do formato provocada pela temperatura permite que, ao girar continuamente, seu diâmetro de alcance chegue a 1,5mm (conforme Figura 2), possibilitando à superfície do instrumento tocar em mais áreas da parede do canal radicular, independente do formato anatômico que o mesmo possua. Sua utilização é recomendada ao final da fase de preparo, com o objetivo de promover um turbilhonamento do líquido irrigante que, além de potencializar sua difusão, maximiza o arraste mecânico das partículas aderidas à superfície do canal.

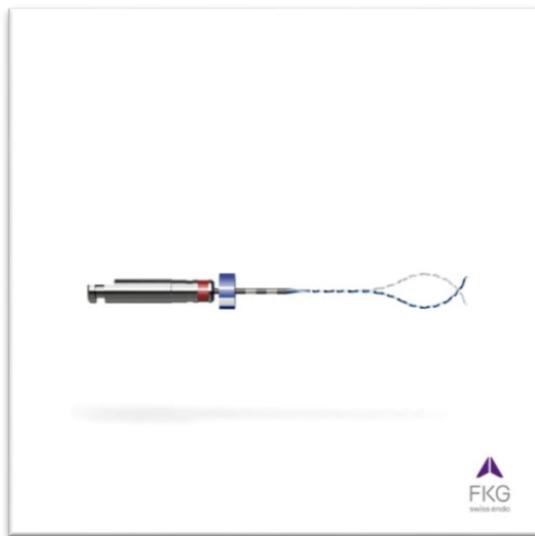


Figura 2 – Instrumento XP Endo Finisher® (FKG Dentaire)

KAYA et al. (2019), em seu estudo que analisou a performance de três tipos de instrumentos endodônticos rotatórios na remoção de biofilme bacteriano em dentes *in vitro*, observaram que todos os espécimes permaneceram com algum grau de contaminação ao final do preparo mecânico, ou seja, não houve a eliminação total da presença bacteriana. Contudo, o instrumento que melhor apresentou desempenho foi o XPEndo® por suas características de conseguir abranger e tocar

em maior área de superfície que os outros instrumentos utilizados (WaveOne Gold® e Hyflex EDM®). Os autores esclareceram que a impossibilidade de remoção total do biofilme é devido à anatomia do canal radicular ter configuração irregular e não coerente com o dos instrumentos endodônticos em geral. Portanto, segundo os autores, há dificuldade de se conseguir que a área total de superfície dos canais seja plenamente alcançada para promover a ação de raspagem e desorganização da matéria orgânica.

XP Endo Finisher® é um instrumento utilizado apenas após a fase de preparo do sistema de canais radiculares, pois seu objetivo não é promover alargamento do conduto. O instrumento não possui ação cortante sobre a dentina. O objetivo de sua utilização é justamente promover o acabamento final da fase de preparo, em especial no que diz respeito a promover a agitação mecânica do líquido irrigante, favorecendo sua melhor difusão e penetração nas reentrâncias e irregularidades da anatomia do canal radicular, bem como no interior da dentina (Pacheco-Yanes et al.; 2020).

2.4.3 Uso de recursos mecânicos com cerdas

SASANAKUL et al. (2019) testaram a efetividade de diversos métodos de desinfecção com o objetivo de identificar o protocolo de irrigação mais promissor para dentes imaturos jovens, com formação radicular incompleta. Os autores utilizaram 92 dentes humanos com forame padronizado em diâmetro de 0,8 mm e promoveram em laboratório a formação de um biofilme de *Enterococcus faecalis* durante 21 dias. Após esse período os dentes foram aleatoriamente divididos em 9 grupos, nos quais o protocolo de irrigação com NaOCl a 1,5% foi utilizado em conjunto com um dispositivo para limpeza mecânica, a saber: limagem convencional, XP Endo Finisher®, irrigação ultrassônica passiva (PUI), irrigação passiva

convencional e escovação com a ponta de seringa Navitip FX®, que possui cerdas em torno da agulha da seringa. Os resultados mostraram que de todos os métodos utilizados, a ponta de seringa Navitip FX® com suas cerdas, semelhante a uma escova, apresentou os melhores resultados de desinfecção e remoção do biofilme e se apresentou como um método não-invasivo para a limpeza da parede dos canais radiculares de dentes com forame amplo e paredes finas.

GONÇALVES et al. (2016) relataram em seu estudo que as amostras de parede radicular onde a camada de pré-dentina foi preservada, com mínima preparação mecânica das paredes, foram conseguidos níveis maiores de liberação de fatores de crescimento, o que pode ter efeito positivo sobre o novo tecido a ser formado. Assim, para os autores, a combinação entre adequada desinfecção e boa preservação da superfície radicular parece ser ideal para aumentar as taxas de êxito do procedimento regenerativo.

KEIR et al. (1990) foram os primeiros a testar a utilização de uma escova para auxiliar na remoção de debris pós-instrumentação dos canais radiculares. A EndoBrush (C & S Microinstruments, Ontario, Canada) foi desenhada com o intuito de ser utilizada manualmente, em movimentos suaves de rotação e escovação, especialmente em condutos onde o formato anatômico difere da geometria circular tradicional que compõem as limas endodônticas convencionais. O instrumento descrito era composto de uma haste de aço inox, com cabo, recoberta com cerdas de nylon, disponível em dois tamanhos de diâmetro ISO 30 e 40. Em um estudo utilizando 70 raízes mesiais de molares superiores, os autores observaram que o grupo no qual a EndoBrush foi usada a qualidade de limpeza da superfície das paredes do conduto foi melhor.

SALMAN et al. (2010) realizaram um estudo com uma escova de haste flexível à base de polipropileno e acionada por um dispositivo sônico (Sonicare - Phillips – Holanda). A escova CanalBrush (ROEKO – Alemanha) com cerdas abrangendo o diâmetro ISO 40 foi adaptada para tal dispositivo e utilizada para remoção de debris pós-instrumentação endodôntica, comparada com irrigação passiva de soluções de hipoclorito de sódio e EDTA. A avaliação foi realizada valendo-se de microscopia eletrônica de varredura e a CanalBrush apresentou os melhores resultados no que tange à remoção de *smear layer* e limpeza dentinária.

GORDUYSUS et al. (2012) avaliaram o efeito da utilização na remoção de hidróxido de cálcio do interior de canais radiculares da CanalBrush (ROEKO, Alemanha). O instrumento foi utilizado em motor elétrico com 600 rpm de rotação contínua e baixo torque, em movimentos de vai-e-vem e foi comparado com a imagem convencional em um estudo utilizando a microscopia eletrônica de varredura. Os autores encontraram melhor resultado de limpeza dentinária nos terços cervical e médio dos espécimes onde CanalBrush foi utilizada e no terço apical identificaram um efeito que classificaram como entulhamento de hidróxido de cálcio.

MARKOVIC et al. (2015) comparando a irrigação passiva com solução irrigadora com a utilização da CanalBrush (ROEKO – Alemanha) acionada a motor em movimento de rotação contínua e com vibração ultrassônica observaram melhores resultados com a escova na remoção de hidróxido de cálcio de canais radiculares retos *in vitro*, valendo-se de imagem digital com 10x de magnificação.

A empresa MK Life produz no Brasil uma escova para uso em contra ângulo de baixa rotação. No site da empresa a descrição presente é:

Escova Profilática para conduto®, ideal para limpeza das paredes do canal e para a remoção de contaminantes, após o preparo para pinos com uso de brocas Peeso. Para limpeza das aberturas de acesso coronal e das

cavidades dos pinos de fixação dos implantes (postes). Para limpeza e remoção de raspas de dentina, *smear layer*, fragmentos de guta-percha e de materiais depositados nas paredes dentinárias, após o preparo com brocas para cimentação de pinos e brocas, aumentando a força de adesão com os cimentos e adesivos. (MKLife, 2020, s/p)

A Escova Profilática para conduto® MK Life apresenta as seguintes características: tufo de cerdas de nylon com 2,0 mm de diâmetro, ponta ativa de cerdas com 10 mm de comprimento, 17 mm de extensão total do instrumento, quando inserido no contra ângulo. A Figura 3 mostra o formato e dimensões da Escova. Os diâmetros de preparo de espaço para pino em dentes adultos podem ser muito semelhantes à amplitude dos condutos de dentes imaturos jovens. Sendo assim, seria interessante testar a utilização de tal recurso para a desinfecção endodôntica em procedimentos de endodontia regenerativa.



Figura 3 – Escova Profilática para conduto® (MK Life)

Em tempo, levando em consideração os resultados do trabalho de Sasanakul et al. (2019) e Hristov et al. (2020) e a ideia da utilização de preparo mecânico não-invasivo, um outro recurso interessante a ser estudado é a utilização de *microbrushes* com a finalidade de promover essa desinfecção em associação à

irrigação do conduto radicular amplo. Em especial o Aplik Extrafino® (Angelus – Brasil) são pequenas escovas utilizadas para aplicação de adesivos dentinários (Angelus, 2020), mas que, por conta da diversificação de modelos, tamanhos e diâmetros presentes no mercado nacional, podem ser testados para melhorar a desinfecção dos procedimentos de endodontia regenerativa. As dimensões da ponta ativa do instrumento são: 16,5 mm de ponta ativa dobrável em contra ângulo (favorecendo a inclinação de utilização), 1,5 mm de diâmetro do tufo de microcerdas, 2 mm de diâmetro no início da área dobrável da ponta ativa (conforme Figura 4). Tais dimensões são perfeitamente adaptáveis às condições de utilização em dentes de condutos amplos, especialmente os anteriores.



Figura 4 – *microbrush* Aplik Extrafino® (Angelus)

2.4.4 Recursos mecânicos e extrusão apical

PETERS et al. (2018) compararam a extrusão de irrigantes em dentes imaturos durante o procedimento endodôntico de limpeza do sistema de canais radiculares e concluíram que de fato extravasamento pode ocorrer e que seu volume depende de vários fatores relativos aos instrumentos usados para a ativação mecânica das soluções irrigantes, como cinemática do mesmo e diâmetro de ponta.

REIS et al. (2020) estudaram a extrusão de irrigante em dentes com ápice aberto utilizando-se de cinco diferentes técnicas e concluíram que todas promoveram o extravasamento de solução química. No entanto, a utilização do XPEndo Finisher foi a que promoveu os menores níveis.

MAGNI et al. (2021) avaliaram *in vitro* vários recursos para ativação e limpeza química das paredes de um protótipo de incisivo central com ápice aberto. Concluíram que o XP Endo Finisher®, dentre outros dispositivos testados, em qualquer profundidade de penetração não atingiu os limites de pressão para produzir extrusão apical de irrigantes.

O recurso mecânico ideal é aquele que promove a máxima remoção de debris e biofilme bacteriano, bem como mínimo ou nenhum extravasamento de solução de hipoclorito de sódio, garantindo a adequada eliminação da contaminação microbiana, uma superfície de parede dentinária mais limpa e preservando a integridade dos tecidos apicais, especialmente da papila apical, que é a fonte de células mesenquimais que darão origem ao novo tecido no interior do canal radicular. É ainda de especial interesse que tal recurso seja de boa viabilidade, baixo custo e baixa curva de aprendizado, possibilitando a implantação em unidades básicas de saúde, já que se trata de procedimento a ser desenvolvido em crianças na faixa etária de 6 a 13 anos de idade.

No Brasil, no ano de 2020, 14.226 crianças foram referenciadas para atendimento endodôntico na faixa da dentição mista. Em 2021, de janeiro a novembro foram 29.808 novos pacientes indicados para atendimento com especialistas nos Centros de Especialidades Odontológicas da Rede Pública (Ministério da Saúde, 2021).

A utilização de instrumentos que tenham o formato de uma escova, com cerdas flexíveis, que se adaptem à morfologia do conduto amplo e possam, ao ser acionados, promover remoção mecânica de debris e biofilme, sem desgastar a superfície dentinária, pode ser uma interessante solução para potencializar a limpeza e desinfecção do sistema de canais de dentes com ápice aberto a custos acessíveis e compatíveis com a utilização na rede pública.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi comparar o desempenho de quatro métodos de limpeza mecânica a serem usados na desinfecção de canais de dentes permanentes imaturos: lima K n° 50 (Dentsply-Syrona), XP Endo Finisher® (FKG Dentaire), Escova Profilática para conduto® (MK Life) e microbrush Aplik® Extrafino (Angelus), realizando análises de extrusão apical de irrigante, grau de limpeza das paredes dentinárias e redução de carga microbiana.

4 MÉTODO

4.1 Aspectos éticos

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté por meio do sistema Plataforma Brasil, tendo sido aprovado em 12/04/2021 com o número CAAE 45245820.7.1001.5501.

4.2 Seleção das amostras

Foram selecionados 70 dentes humanos dentro dos seguintes parâmetros:

Crítérios de inclusão: pré-molares inferiores, com raízes retas e formadas, de apenas um conduto.

Crítérios de exclusão: presença de fraturas ou trincas na superfície radicular, presença de aberrações anatômicas ou curvatura.

Os dentes foram extraídos por razões terapêuticas diversas, especialmente periodontais e/ou ortodônticas, doados ao Banco de Dentes do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté, por pacientes que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) em anexo ao presente trabalho. Os dentes foram radiografados no sentido ortorradial e mesiorradial para confirmação da presença de conduto único.

4.3 Cálculo amostral

Cálculo amostral foi realizado a fim de determinar o número de amostras necessárias para a presente pesquisa. Foi utilizado o *software* BioEstat 5.3 para realização do cálculo, com nível de significância de 95% e poder do teste de 80%. O cálculo foi baseado em estudos que utilizaram metodologia semelhante.

4.3.1 Preparo geral das amostras

Os dentes após serem extraídos e se enquadrarem nos critérios de inclusão foram submersos em solução de hipoclorito de sódio a 2,5% (Biodinâmica, Ibiporã,

Paraná) por 2 horas. Em seguida, as superfícies radiculares foram raspadas com lâmina de bisturi nº 15 (Lamedid, Cidade de Suzhou, China), para remoção dos restos orgânicos, lavados com solução de tiosulfato de sódio a 5% (Lenzafarm, Belo Horizonte, Minas Gerais), e armazenados em solução fisiológica. As coroas foram preservadas e os ápices radiculares foram cortados com um disco diamantado (KG Sorensen, Cotia, São Paulo). Os segmentos de dente foram padronizados em 15 mm de extensão, com as porções apicais sendo removidas. Cirurgia de acesso foi realizada utilizando-se pontas diamantadas esféricas nº 1014 e tronco-cônica nº 3081 (KG Sorensen, Cotia, São Paulo) com um diâmetro de abertura mínimo de 2,5 mm e forma de contorno condizente com o formato anatômico da coroa. Os dentes foram inicialmente explorados com lima Target nº 10 (Easy Equipamentos Odontológicos, Belo Horizonte, Minas Gerais) e em seguida, instrumento rotatório de níquel-titânio Prodesign S nº 20.06 (Easy Equipamentos Odontológicos, Belo Horizonte, Minas Gerais) foi utilizado para promover alargamento inicial do conduto. Em sequência uma broca Gates Glidden nº 5 (Dentsply-Syrona, Ballaigues, Suíça) foi posicionada em contra-ângulo (Dabi-Atlante Indústrias Odontológicas, Ribeirão Preto, São Paulo) acoplado a micromotor (Dabi-Atlante Indústrias Odontológicas, Ribeirão Preto, São Paulo) a ar comprimido. O instrumento foi acionado para padronizar os diâmetros dos condutos em 1,3 mm em toda sua extensão e simular condutos amplos como dentes imaturos com ápice aberto. Na sequência os dentes foram esterilizados por autoclavagem. A Figura 5 ilustra o fluxograma de trabalho.

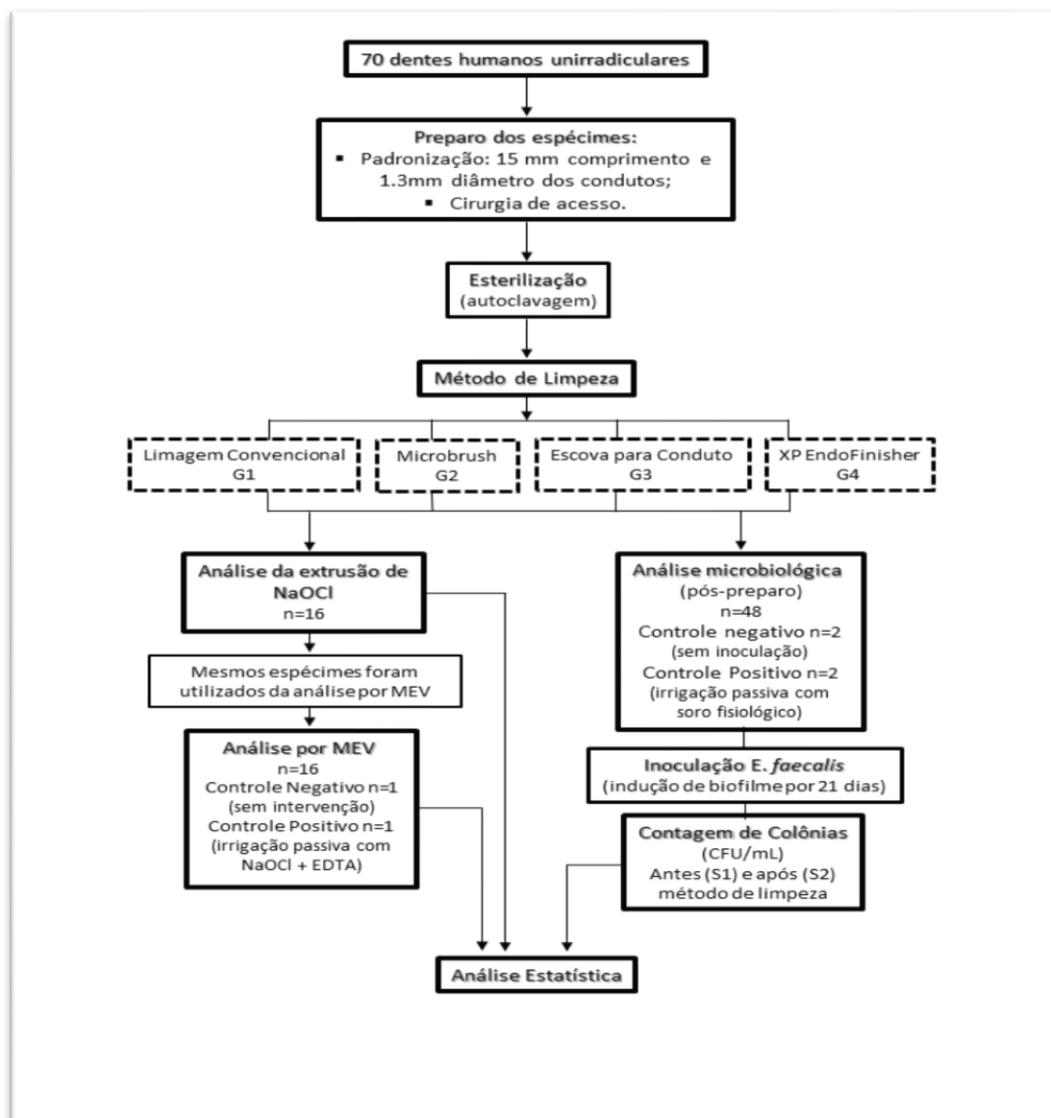


Figura 5 – Fluxograma de execução da metodologia do estudo

4.4 Análise de extrusão de irrigante

Após a radiografia inicial (Figura 6) e o preparo dos espécimes (Figura 7), a extrusão de irrigante foi analisada baseando-se na metodologia de Myers & Montgomery (1991) e Nesser & Bshara (2019). Dezesesseis tubos de Eppendorf plástico com tampa (Hexis, Jundiaí, São Paulo) foram pesados individualmente em uma balança analítica com precisão de 0,001g (OHAUS, Nova Jersey, EUA). Em seguida, uma seringa de plástico com 5mL de capacidade e êmbolo de silicone (ULTRADENT, EUA) foi pesada vazia. Tendo sido inserida a tara da seringa de

plástico na balança de precisão, 5 mL de solução de NaOCl a 2,5% (Biodinâmica, Ibiporã, Paraná) também foram pesados a fim de se ter como dado para o cálculo da quantidade de extrusão, quando da realização do experimento. Os dezesseis frascos de Eppendorf tiveram suas tampas furadas ao centro, objetivando a inserção de dezesseis espécimes de pré-molares inferiores inseridos até a junção cimento-esmalte. Os dentes foram fixados na posição com resina composta fotopolimerizável (Prisma APH, Dentsply-Syrona, Petrópolis, Rio de Janeiro). Uma camada de cera n. 07 (Clássico Artigos Odontológicos Ltda., Campo Limpo Paulista, São Paulo) de 2 mm de espessura envolvendo o ápice radicular foi colocada e a superfície radicular isolada com gel lubrificante K med (Cimed, São Paulo), conforme mostra a figura 8. Então, os tubos de Eppendorf foram preenchidos com gelatina incolor (Dr. Oetker, Belo Horizonte, Minas Gerais) e as tampas fechadas, posicionando os dentes com as raízes imersas na gelatina (figura 9). O conjunto foi levado à refrigeração em temperatura de 4°C por 12 horas, para endurecimento da gelatina. Findo o período, as tampas com os dentes foram reabertas e a camada de cera no ápice removida. Novamente o Eppendorf teve sua tampa fechada e o dente posicionado, guardando o espaço de 2 mm de espessura na gelatina, com o objetivo de simular a papila apical. Cada conjunto foi pesado duas vezes: antes e depois do procedimento endodôntico, para que cada amostra fosse controle dela mesma. A etapa endodôntica (a ser descrita mais a frente no texto) foi realizada com o conjunto espécime e eppendorf presos a um pequeno torno para facilitar a manipulação (figura 10). Quando do término da utilização de cada agente mecânico de limpeza, a quantidade de solução de hipoclorito de sódio extravasada e eventualmente acumulada foi pesada e transformada em volume (mL) pela seguinte equação:

$$(1) \text{Volume de irrigante extruído} = \frac{\text{peso do irrigante extruído} \times 5}{\text{peso de 5 mL do irrigante}}$$

Os dados foram tabulados, sua distribuição amostral foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e submetidos à análise estatística pelo teste de Kruskal Wallis.



Figura 6 – Dentes a serem radiografados



Figura 7 – Realização do corte da região apical



Figura 8 – Dente acoplado à tampa do eppendorf e com cera nº 7 na região apical



Figura 9 – Espécimes prontos após inserção no eppendorf contendo gelatina incolor



Figura 10 – Montagem do conjunto espécime/eppendorf no torno

4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Quatro espécimes de cada grupo foram sulcados longitudinalmente valendo-se de um disco diamantado (KG Sorensen, Cotia, São Paulo), evitando-se chegar até a área do conduto. As raízes foram separadas em duas metades com um cinzel (Golgran, São Caetano do Sul, São Paulo). Dois espécimes foram utilizados como controle. Em um espécime nenhum procedimento foi feito (controle negativo). O

controle positivo foi um espécime no qual foi realizada irrigação passiva de 5 mL de solução de hipoclorito de sódio a 2,5% seguida de 5 mL de EDTA a 17%. Todos os espécimes foram lavados e deixados desidratar por dez minutos em uma sequência ascendente de álcool etílico – 80%, 90% e 100% (Grinbella Farmácia de Manipulação, Volta Redonda, Rio de Janeiro). Em seguida suas metades foram montadas em porta-amostras (*stubs*) de alumínio (EMCM Taobao, China), conforme figura 11, fixados com fita condutora de carbono (Ted Pella Inc., Reding, EUA) e levados a uma metalizadora Emitech modelo K550X (Quorum Technologies, Laughton, Inglaterra) na qual foram recobertos com camada de 25 nm de espessura de ouro para visualização em microscópio eletrônico de varredura modelo TM 3000 (Hitachi, Tóquio, Japão), de acordo com as figuras 11 e 12.



Figura 11 – Segmentos dos espécimes já desidratados, dispostos nos stubs para posterior metalização

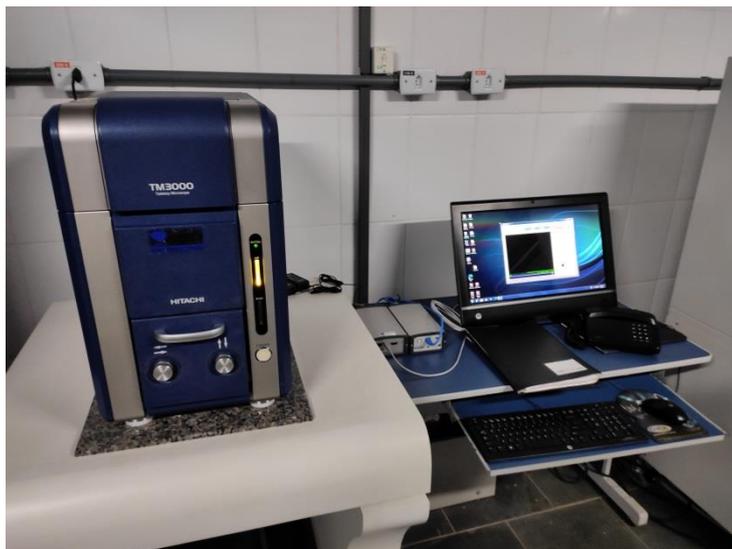


Figura 12 – Microscópio eletrônico de varredura modelo Hitachi TM 3000

Dois observadores, ambos endodontistas e pesquisadores, foram calibrados para realizar a observação das imagens e um sistema de *scores* foi adotado com o objetivo de aferir o grau de limpeza dentinária. Foram realizadas marcações macroscópicas com um identador nas mesmas regiões de cada terço de uma metade de cada dente para guiarem a observação do mesmo ponto na região cervical, média e apical. Cada amostra foi observada com aumento inicial em 50X e após localização da marca correspondente ao terço, a análise foi feita em 1500X, conforme metodologia adaptada de Turkeydin et al. (2017).

Os *scores* atribuídos foram:

- 0 – presença de debris e smear layer em toda a superfície (figura 13);
- 1 – presença de debris e smear layer em até 80% da superfície (figura 14);
- 2 - presença de debris e smear layer em até 60% da superfície (figura 15);
- 3 - presença de debris e smear layer em até 40% da superfície (figura 16);
- 4 - presença de debris e smear layer em até 20% da superfície (figura 17);
- 5 - ausência total de debris e *smear layer* (figura 18).

Foram geradas 54 imagens para serem analisadas em dois momentos distintos, com intervalo de sete dias, separadamente por cada examinador e os *scores* foram atribuídos sem que um tivesse acesso aos dados do outro. Após a segunda avaliação, ambos os examinadores cruzaram suas avaliações e as eventuais diferenças foram debatidas até consenso. Os resultados foram registrados e tabulados para análise estatística pelo teste de Kruskal-Wallis.

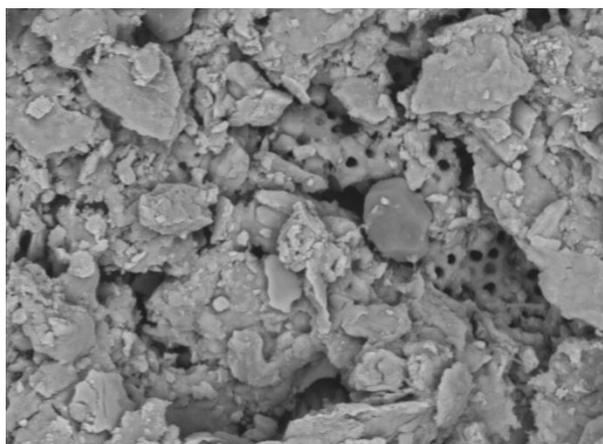


Figura 13 – Exemplo de *score* zero – espécime do controle negativo (1500X)

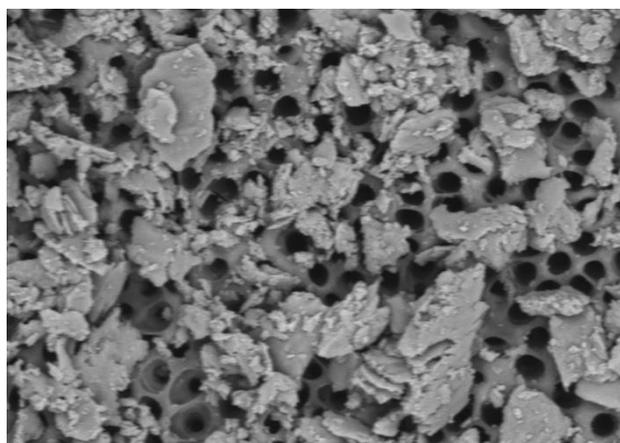


Figura 14 – Exemplo de *score* 1 – terço apical espécime 2.1 Lima K nº 50 (1500X)

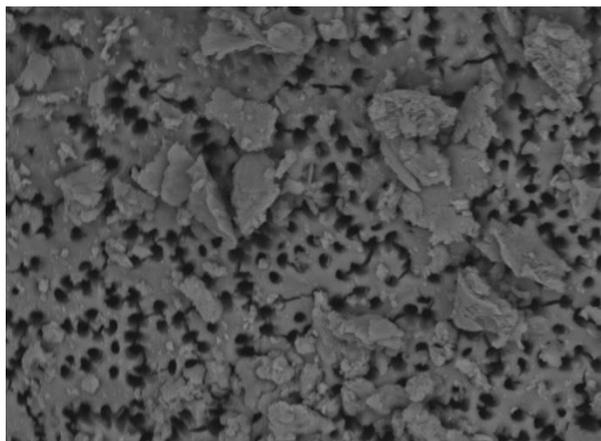


Figura 15 – Exemplo de score 2 – terço médio do espécime 2.1- Aplik Extrafino® (1500X)

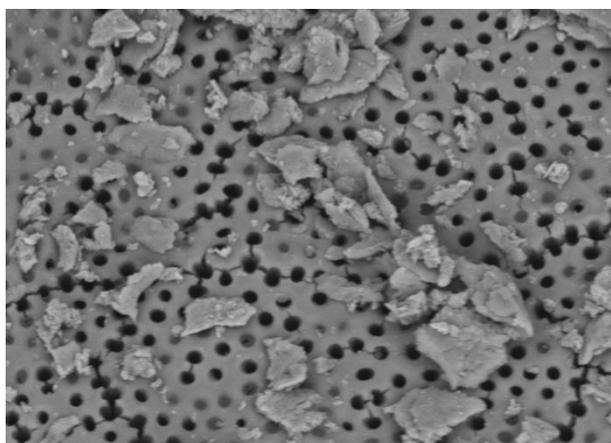


Figura 16 – Exemplo de score 3 – terço apical do espécime 4.2 - XP Endo Finisher® (1500X)

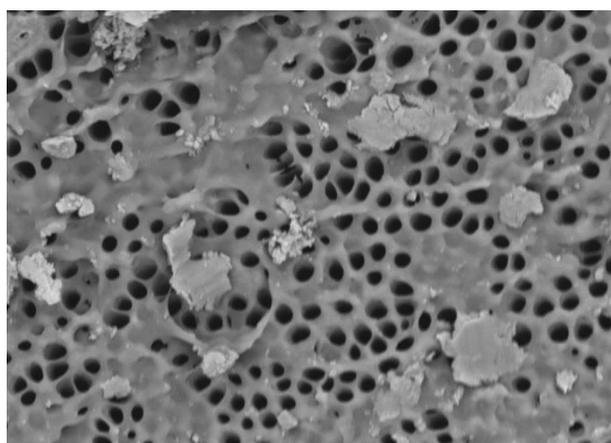


Figura 17 – Exemplo de score 4 – terço cervical do espécime 3.4 - Escova Profilática para conduto® (1500X)

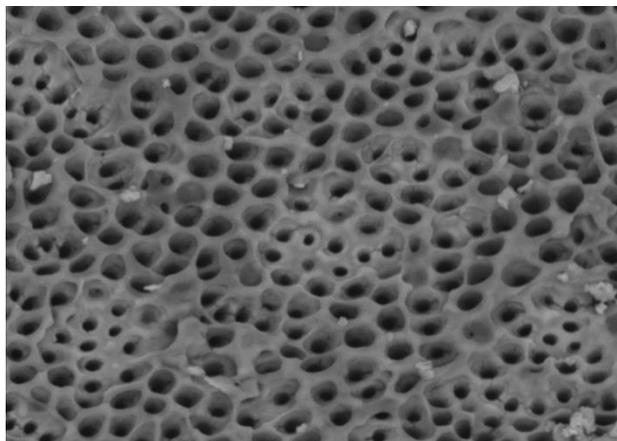


Figura 18 – Exemplo de score 5 – terço apical espécime 3.2 - Escova Profilática para conduto® (1500X)

4.6 Análise de redução da carga microbiana

Os espécimes foram autoclavados para garantir sua devida esterilização. Dois espécimes foram imersos em caldo estéril BHI (Difco/Becton-Dickson, São Paulo) e incubados por 48 horas para funcionarem como controle negativo, (Figura 19) atestando a efetividade do método de esterilização. Uma suspensão com nível 1 na escala de McFarland foi preparada em caldo BHI e diluída 30 vezes para se obter uma suspensão inicial 1×10^7 UFC/mL. Cinquenta dentes acessados foram imersos individualmente em 1 mL de caldo BHI de suspensão de cultura pura de *Enterococcus faecalis* (CCT 14494) em cinquenta tubos criogênicos de polipropileno, de 1,8 mL de capacidade (Nalgene Inc., Rochester, EUA). Tais amostras foram incubadas em estufa a 37°C, com 5% de CO₂ e 95% de umidade (MMM INCUCCELL, Biovera, Rio de Janeiro-RJ) por 3 semanas com o caldo BHI sendo repletado a cada 48 horas (Figura 20). A confirmação do crescimento bacteriano foi obtida pela intensa turvação do meio durante o período de incubação e a pureza das culturas foi

atestada pelo método de coloração de Gram e observação em microscópio óptico (Figura 21).

Findo o período de incubação, os dentes foram lavados externamente em soro fisiológico para remoção das células livres e foram feitas as coletas de amostras de cada conduto antes (S1) e depois (S2) do preparo endodôntico, com cones de papel nº 40, esterilizados por raios gama (Cell Pack, Tanariman Produtos Odontológicos, Manacupuru, Amazonas) até o comprimento total do espécime durante 1 min, em movimentos circulares para permitir o máximo contato com a parede do conduto. As pontas de papel foram transferidas para tubos de ensaio (Laborglas, São Paulo-SP) contendo 1 mL de solução salina a 0,85%. Cada tubo foi agitado em vórtex (Vortex Genie 2, Scientific Industries, Nova Iorque, EUA) por 1 minuto e seu conteúdo foi diluído em 9 mL de solução salina estéril. Alíquotas de 0,1 mL de cada amostra da diluição a 10^{-1} foram semeadas em placas de Petri descartáveis (Hexis Científica, Jundiaí, São Paulo) e meio ágar BHI com auxílio de uma alça de Drigalski de vidro (Laborglas, São Paulo-SP) e incubadas por 24h a 37°C. Encerrado o período, as placas foram removidas da estufa para contagem de colônias em UFC (Figura 22), valendo-se de um contador de colônias digital (CP-600/1, Tecnal, Piracicaba, São Paulo). O mesmo procedimento foi realizado antes e depois da aplicação do método de limpeza e os dados coletados foram registrados e tabulados para a devida análise de redução de carga microbiana e estatística (Kaya et al., 2019). O irrigante utilizado para o procedimento endodôntico nessa fase foi 5 mL de solução salina estéril aquecida a 36,5°C e variou-se apenas o método de limpeza mecânica empregado.

Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para análise estatística.



Figura 19 – Dentes do controle negativo em caldo de cultura estéril



Figura 20 – Criotubos contendo os dentes imersos no caldo de cultura contendo *Enterococcus faecalis* sendo incubados na estufa

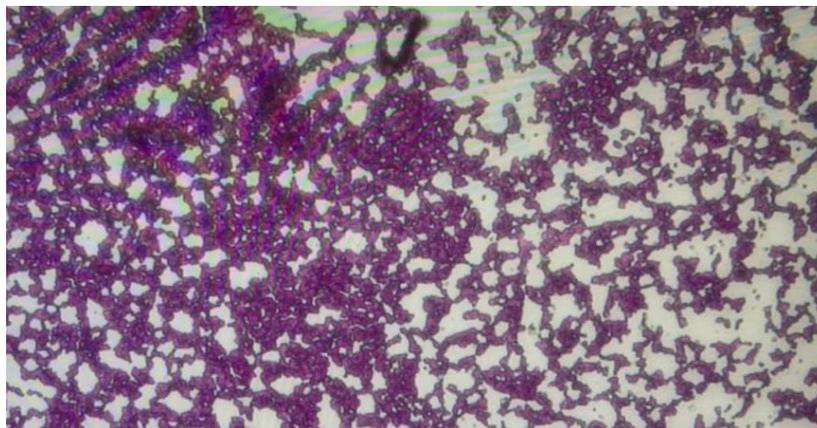


Figura 21 – Confirmação ao microscópio ótico pelo método de Gram da contaminação por cocos gram positivos (*E. faecalis*) – 400X

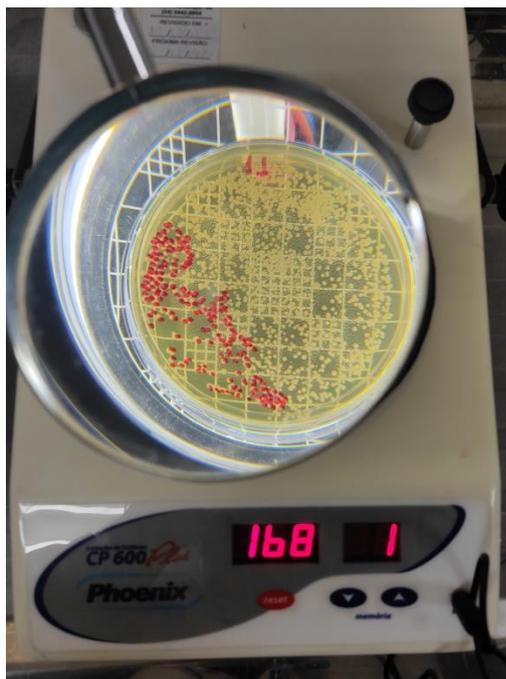


Figura 22 – Placa de Petri sendo contada no contador de colônias

4.7 O procedimento endodôntico

4.7.1 Análise de extrusão de irrigante

Dezesseis espécimes foram selecionados aleatoriamente e montados no Eppendorf, como descrito no item correspondente, e foram submetidos ao procedimento endodôntico conforme descrito abaixo.

GRUPO 1 – Lima K n° 50 (n=16):

O conduto foi preenchido com solução de hipoclorito de sódio a 2,5% aquecida a 36,5°C em banho maria. Um termômetro de imersão Testo 106 foi utilizado para monitorar a temperatura (Texto do Brasil, Campinas, São Paulo). O instrumento manual do tipo K e numeração ISO 50 foi introduzido em movimento oscilatório de ¼ de volta sentido horário/anti-horário até 1 mm aquém da saída foraminal (14 mm). Atingido o comprimento de trabalho, o movimento passou a ser de limagem circunferencial, buscando girar o instrumento e ao mesmo tempo promover ação de raspagem, em movimento de tração de viés. Uma seringa de

plástico com êmbolo de silicone com capacidade para 5 mL foi utilizada para promover a irrigação com uma agulha com saída lateral (EndoEze – Ultradent, EUA). Um *stop* de silicone foi colocado na agulha, marcando o mesmo comprimento de trabalho. A irrigação foi feita em suaves movimentos de vai-e-vem e em intervalos de 20 segundos de ação da lima no interior do conduto. O passo foi sendo repetido até que todo o conteúdo de NaOCl do interior da seringa se esgotasse. O tempo total padrão estabelecido para a execução de cada procedimento foi 1 min e 20s. Ao término do procedimento, uma ponta de papel absorvente nº 80 (Dentsply-Syrona, Ballaigues, Suíça) foi introduzida até o comprimento de trabalho, sendo deixada por 30 s e removida. Então, o conjunto foi novamente pesado na balança de precisão e o peso que se mantivesse estável no visor por 5 segundos foi registrado para posterior tabulação.

GRUPO 2 – Microbrush Aplik Extrafino® (n=16)

Finalizada a pesagem dos espécimes após execução do preparo no Grupo 1, foram secados com jatos de ar e novamente pesados, tendo seu peso inicial tabulado. Em sequência, a seringa descartável foi preenchida com mais cinco mL de solução de hipoclorito de sódio a 2,5% aquecida a 36,5°C. Novamente cada espécime, dos dezesseis destinados a esse experimento, foi preenchido com a solução irrigante e o microbrush Aplik Extrafino® (Angelus, Londrina, Paraná) foi introduzido gentilmente em movimentos suaves de vai-e-vem até a medida de 14 mm (Figura 23). Ao se atingir o comprimento de trabalho foi realizado movimento de vai-e-vem, de amplitude abrangendo desde a porção apical até cervical, com leve pressão contra as paredes e de forma a circundar, buscando tocar o máximo da superfície possível das paredes. A cada 20 s de ação do instrumento havia uma pausa para irrigação e quando esgotado o conteúdo da seringa, o procedimento era

encerrado (Figura 24). Mesmo tempo para execução foi respeitado: 1 min 20 s. Uma ponta de papel absorvente n° 80 foi introduzida no conduto para remover o excesso de líquido por 30 s e cada conjunto foi pesado na balança de precisão, com seu resultado registrado.



Figura 23 – Aplik Extrafino® sendo utilizado



Figura 24 – Momento da irrigação e sucção do irrigante

GRUPO 3 – Escova Profilática para conduto® (n=16)

Encerrada a etapa de pesagem dos espécimes após execução do preparo no Grupo 2, os dentes foram secados com jatos de ar e novamente pesados, tendo seu peso inicial tabulado.

Em seguida, mais cinco mL de solução de NaOCl a 2,5% aquecida a 36,5°C foram inseridos na seringa descartável. A Escova Profilática para conduto® (MK Life, Porto Alegre, Rio Grande do Sul) foi inserida no contra-ângulo de um motor elétrico (EASY ENDO SI, Easy Equipamentos Odontológicos, Belo Horizonte, Minas Gerais) programados com parâmetros de 800 rpm de velocidade e 1 N/cm² de torque. Novamente cada espécime, dos dezesseis destinados a esse experimento, foram preenchidos com solução irrigante e a Escova Profilática para conduto® (MK Life, Porto Alegre, Rio Grande do Sul) foi introduzida e ativada gentilmente em movimentos suaves de vai-e-vem até a medida de 14 mm. Ao se atingir o comprimento de trabalho, foi realizado movimento de vai-e-vem, de amplitude abrangendo desde a porção apical até cervical, com leve pressão contra as paredes e de forma a circundar, buscando tocar o máximo possível das superfícies das paredes. A cada 20 s de ação do instrumento havia uma pausa para irrigação e quando esgotado o conteúdo da seringa, o procedimento era encerrado. Mesmo tempo para execução foi respeitado: 1 min 20 s. Ao término, uma ponta de papel absorvente n° 80 foi introduzida no conduto por 30 s para remover o excesso de líquido e cada conjunto foi pesado na balança de precisão, com seu resultado devidamente registrado.

GRUPO 4 – XP Endo Finisher® (n=16)

Os condutos foram preenchidos com solução de hipoclorito de sódio a 2,5% aquecida em banho maria a 36,5°C. O instrumento XP Endo Finisher® (FKG Dentaire, La Chaux de Fond, Suíça) foi acoplado ao contra-ângulo do motor EASY ENDO SI (Easy Equipamentos Odontológicos, Belo Horizonte, Minas Gerais) com os parâmetros programados de velocidade e torque em 800 rpm e 1 N/cm², respectivamente. Ao ser acionado, foi introduzido em movimentos suaves de vai-e-

vem até 1 mm aquém da saída foraminal (14 mm). Atingido o comprimento de trabalho, o movimento foi mantido, porém com amplitude maior, abrangendo desde o terço cervical até apical. A mesma seringa de plástico com êmbolo de silicone com capacidade para 5 mL foi utilizada para promover a irrigação, com agulha de saída lateral e cursor de silicone, determinando o mesmo comprimento de trabalho. A irrigação foi feita em suaves movimentos de vai-e-vem e em intervalos de 20 segundos de ação do instrumento no interior do conduto. O passo foi sendo repetido até que todo o conteúdo de NaOCl do interior da seringa se esgotasse. O tempo total padrão estabelecido para a execução de cada procedimento foi 1 min e 20s. Ao término do procedimento, uma ponta de papel absorvente nº 80 (Dentsply-Syrona, Ballaigues, Suíça) foi introduzida até o comprimento de trabalho, sendo deixada por 30 s e removida. Então, o conjunto foi novamente pesado na balança de precisão e o peso que se mantivesse estável no visor por 5 segundos foi registrado para posterior tabulação.

4.7.2 Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura

Para o desenvolvimento de tal etapa, os mesmos espécimes do experimento anterior foram usados. Após a realização de cada grupo, quatro espécimes foram separados aleatoriamente para serem submetidos à finalização do preparo químico-mecânico, com irrigação de EDTA a 17% (Fórmula & Ação Farmácia de Manipulação, São Paulo) também aquecida a 36,5°C, variando-se o recurso mecânico, conforme a seguir:

GRUPO 1 – Lima K nº 50 (n=4)

Em quatro espécimes, após o término do volume de hipoclorito de sódio a 2,5%, a seringa foi completada com mais 5 mL de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 17%. O conduto foi preenchido por EDTA até a borda da cavidade de

acesso, com a agulha sendo introduzida em suaves movimentos de vai-e-vem até um milímetro aquém da abertura foraminal. Novamente o instrumento foi introduzido gentilmente no conduto, em suaves movimentos oscilatórios, de avanço e retrocesso e tão logo tenha chegado ao comprimento de trabalho de 14 mm, tração de viés foi realizada. A cada 20 s de ação do instrumento, renovação do líquido foi realizada através da irrigação até que todo o conteúdo da seringa fosse esgotado. O tempo total de procedimento ficou estabelecido em 1 min e 20 s. Concluído o processo, uma ponta de papel nº 80 foi introduzida durante 30 s, procurando-se tocar em todas as paredes para garantir a secagem e os dentes foram reservados para a desidratação e metalização necessárias para a análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

GRUPO 2 – Microbrush Aplik Extrafino® (n=4)

Outros quatro espécimes do experimento anterior, após utilização do Microbrush associado ao hipoclorito de sódio a 2,5%, tiveram seus condutos preenchidos com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 17%. O conduto foi preenchido até a borda da cavidade de acesso, com a agulha sendo introduzida em suaves movimentos de vai-e-vem até um milímetro aquém da abertura foraminal. O Microbrush foi introduzido gentilmente no conduto, em suaves movimentos de avanço e retrocesso e assim que chegou ao comprimento de trabalho de 14 mm, a amplitude do movimento foi aumentada para abranger desde o terço apical ao cervical, associando movimento circundante das paredes, buscando tocar no máximo de superfície possível. A cada 20 s de ação do instrumento, renovação do líquido foi realizada através da irrigação até que todo o conteúdo da seringa fosse esgotado. O tempo total de procedimento ficou estabelecido em 1 min e 20 s. Concluído o processo, uma ponta de papel nº 80 foi introduzida durante 30 s,

procurando-se tocar em todas as paredes para garantir a secagem e os dentes foram reservados para processamento e posterior análise em microscopia eletrônica de varredura.

GRUPO 3 – Escova Profilática para conduto® (n=4)

Da mesma maneira como nos grupos anteriores, quatro espécimes foram selecionados para a utilização da Escova Profilática para conduto® em associação com irrigação de EDTA a 17%. Os dentes tiveram suas cavidades pulpares preenchidas com a solução quelante e a Escova foi introduzida suavemente ativada, com os mesmos parâmetros de velocidade e torque anteriormente usados (800 rpm e 1 N/cm², respectivamente) em suaves movimentos de vai-e-vem até atingir o comprimento real de trabalho de 14 mm. Os movimentos foram intensificados para abranger desde a área cervical até a apical, ao mesmo tempo em que movimento circular foi adotado, buscando-se abranger o máximo da superfície possível. O instrumento era acionado por 20 s e findo esse período, foi feita renovação do líquido. Tal passo foi repetido até que o conteúdo da seringa se esgotasse. Ao fim, o conduto foi seco da mesma forma que nos grupos anteriores (ponta de papel absorvente n° 80, por 30 s) e os dentes foram reservados para o processamento para o MEV.

GRUPO 4 – XP Endo Finisher® (FKG Dentaire)

Quatro espécimes restantes da etapa anterior, após utilização do XP Endo Finisher® em associação com hipoclorito de sódio a 2,5%, foram preenchidos com solução de EDTA a 17%. O instrumento foi novamente introduzido acionado, com torque e velocidade iguais ao anteriormente usado, no interior dos condutos radiculares, em suaves movimentos de vai-e-vem até atingir o comprimento de trabalho de 1 mm aquém da abertura foraminal. Quando da chegada do instrumento

à região apical, os movimentos ganharam amplitude maior para envolver a área cervical, passando pela média e chegando à apical sucessiva e repetidamente. O tempo de trabalho entre as renovações do líquido irrigante foi de 20 s. O tempo total de execução pré-estabelecido foi de 1 min e 20 s, com o conteúdo de 5 mL de EDTA tendo sido totalmente utilizado. Ao fim os condutos foram secos e os dentes armazenados para posterior análise no MEV.

Dois espécimes foram utilizados como grupo controle. No controle negativo, nenhum tipo de procedimento ou irrigação foi realizada. No controle positivo apenas foi realizada a irrigação passiva, em suaves movimentos de vai-e-vem com seringa descartável, êmbolo de silicone e agulha de saída lateral de 5 mL de solução de hipoclorito de sódio a 2,5% e mais 5 mL de EDTA a 17%. A irrigação foi realizada dentro do tempo padrão estabelecido de 1 min e 20 s.

4.7.3 Análise de redução de carga microbiana

Quarenta e oito espécimes foram aleatoriamente divididos em 4 grupos (n=12) e quatro foram selecionados para controles positivo e negativo (n=2). Os grupos foram assim divididos aleatoriamente, de acordo com o instrumento endodôntico a ser utilizado:

Grupo 1 – lima K n° 50 (n=12)

Grupo 2 – Microbrush Aplik Extrafino® (n=12)

Grupo 3 - Escova Profilática para conduto® (n=12)

Grupo 4 – XP Endo Finisher® (n=12)

Após o período de incubação de 21 dias das amostras em caldo de cultura pura com *Enterococcus faecalis*, cada espécime foi removido individualmente de dentro do tubo criogênico, lavado em soro fisiológico e posicionado em um pequeno torno (Tornim, Belo Horizonte, Minas Gerais), com inclinação de 45° para simular a

posição do pré-molar inferior. O regime de irrigação adotado para todos os grupos foi de solução salina aquecida a 36,5°C em banho maria, em seringa com êmbolo de silicone e agulha de saída lateral ENDOEZE (Ultradent do Brasil, Indaiatuba, São Paulo). Para aferição da temperatura foi utilizado um termômetro de imersão modelo Texto 106 (Testo do Brasil, Campinas, São Paulo). Uma mesa de trabalho foi montada no laboratório para execução do procedimento endodôntico, conforme Figura 25. Os procedimentos foram realizados dentro uma câmara de fluxo laminar (Lutech Ltda., São José do Rio Preto, São Paulo).



Figura 25 – Mesa de trabalho no laboratório de microbiologia para realização do procedimento endodôntico

Os espécimes do controle negativo foram apenas submetidos no caldo de cultura estéril, após a autoclavagem, por 48 horas para atestar a efetividade da esterilização. O controle positivo foram dois espécimes submetidos a irrigação passiva suave, em movimento de vai-e-vem, com solução salina aquecida foi realizada até o comprimento de trabalho, durante 1 minuto e 20 s.

No grupo 1, o conduto foi preenchido com solução salina e uma lima K n° 50 (Dentsply-Syrona, Ballaigues, Suíça) foi introduzida suavemente em movimentos oscilatórios no sentido horário e anti-horário, associado a movimento gentil de

avanço e retrocesso até se atingir 14 mm de comprimento do dente. Na sequência, o instrumento K passou a ser usado em movimentos de tração de viés com vistas a promover a desorganização da matéria orgânica e do biofilme. O tempo para o procedimento foi padronizado em 1 minuto e 20 segundos para todos os espécimes e a cada 20 segundos de preparo com o instrumento, a solução salina era renovada. Findo o tempo, uma ponta de papel absorvente nº 40 estéril foi introduzida durante um minuto, procurando-se contato da mesma com as paredes, para coleta da amostra pós-procedimento (S2).

No grupo 2, o recurso testado foi o microbrush Aplik® Extrafino (Angelus, Londrina, Paraná). Os condutos foram preenchidos com a solução aquecida a 36,5°C de solução salina e o Microbrush foi introduzido em movimentos de vai-e-vem buscando escovar as paredes, até se atingir o comprimento de trabalho de 14 mm. A cada 20 s de ação do instrumento a solução era renovada. O procedimento foi repetido até o tempo total de 1 minuto e 20 segundos. Finda etapa, a coleta da amostra (S2) foi realizada da mesma forma que nos outros grupos.

No grupo 3, o procedimento foi repetido nas mesmas condições que os outros grupos, porém foi utilizada a Escova Profilática para conduto® (MK Life, Porto Alegre, Rio Grande do Sul), onde a mesma foi posicionada em um contra-ângulo com redução 1:1 e acionada por motor elétrico endodôntico (VDW Silver, Dentsply Syrona, Ballaigues, Suíça), nos parâmetros de 800 rpm e torque de 1 N/cm², em movimentos de vai-e-vem e circular para buscar contato com as paredes dos condutos, durante 1 minuto e 20 s. A cada 20 segundos de ativação do instrumento a solução era renovada. Ao término do tempo, foi realizada a coleta da amostra (S2) com ponta de papel absorvente estéril.

Finalmente, no grupo 4, os condutos foram preenchidos com solução salina aquecida a 36,5°C e o instrumento XP Endo Finisher® (FKG Dentaire, La Chaux des Fonds, Suíça) foi ativado conectado a um contra-ângulo com redução 1:1 e acionado por motor elétrico endodôntico (VDW Silver, Dentsply Syrona, Ballaigues, Suíça), nos parâmetros de 800 rpm de velocidade e torque de 1 N/cm², conforme orientação do fabricante, com movimentos de entrada e saída a fim de possibilitar a agitação por igual da solução irrigante homogeneamente em toda a extensão do conduto. O procedimento foi realizado em cada espécime durante 1 minuto e 20 segundos, com intervalos para renovação da solução irrigante a cada 20 segundos de ação do instrumento. Ao término, ponta de papel absorvente estéril foi introduzida para coleta da amostra (S2) e semeadura em placas de Petri para posterior contagem (Figura 26).



Figura 26 – Placas de Petri de S1 e S2 após contagem

4.8 Análise estatística

Os dados foram analisados com auxílio do programa BioEstat 5.3. A análise da distribuição das amostras foi realizada por meio do teste Shapiro-Wilk. Apenas o grupo da lima K n° 50 apresentou a distribuição normal. Diante desses resultados optou-se por testes não-paramétricos. Na análise de extrusão, o teste utilizado foi Kruskal Wallis, bem como para a análise estatística dos resultados do experimento usando microscopia eletrônica de varredura e de redução de carga microbiana.

5 RESULTADOS

5.1 Análise da extrusão de irrigante

Tabela 1 - Extrusão de irrigantes variando o recurso o mecânico (em mL).

Espécime	Lima 50	MicroBrush	Escova	XPEndo
1	0.034	0.005	0.062	0.015
2	0.009	0.005	0.035	0.004
3	0.022	0.020	0.073	0.013
4	0.026	0.042	0.017	0.006
5	0.021	0.013	0.165	0.000
6	0.021	0.065	0.021	0.000
7	0.025	0.025	0.029	0.005
8	0.057	0.002	0.018	0.002
9	0.007	0.002	0.053	0.022
10	0.012	0.003	0.094	0.010
11	0.003	0.003	0.029	0.016
12	0.041	0.011	0.041	0.003
13	0.013	0.003	0.046	0.005
14	0.032	0.004	0.055	0.026
15	0.022	0.001	0.076	0.006
16	0.095	0.019	0.040	0.003
Média	0.027	0.014	0.053	0.008
Mediana	0.022	0.005	0.0435	0.0055
Desv. Pad.	±0.020	±0.017	±0.037	±0.007

Tabela 2 - Resultados das interações entre os grupos pelo teste de Kruskal Wallis (Método de Dunn).

Comparações (método de Dunn)	Dif. Postos	z calculado	z crítico	P
Postos Médios				
Lima 50 X Microbrush	15.4063	2.3404	2.635	Ns
Lima 50 X Escova	12.7813	1.9416	2.635	Ns
Lima 50 X XP-Endo Finisher	18.875	2.8673	2.635	<0.05
Microbrush X Escova	28.1875	4.282	2.635	<0.05
Microbrush X XP-Endo Finisher	3.4688	0.5269	2.635	Ns
Escova X XP-Endo finisher	31.6563	4.8089	2.635	<0.05

Nos resultados do teste de Kruskal Wallis observou-se que as interações entre os Grupos: Lima 50 X Microbrush; Lima 50 X Escova e Microbrush X XP-Endo Finisher não foram obtidas diferenças estatisticamente significantes. Nas interações entre os Grupos Lima 50 X XP-Endo Finisher; Microbrush X Escova e Escova X XP-Endo Finisher as diferenças foram estatisticamente significantes a α 0,05.

5.2 Análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Tabela 3 - Scores de cada terço em cada grupo na análise por MEV.

Espécime	Terço	LIMA 50	Microbrush	Escova	XP Endo Finisher®	*Controle +	**Controle -
1	Cervical	5	3	5	4	1	0
	Médio	1	2	3	2	1	0
	Apical	2	5	2	1	1	0
2	Cervical	1	3	5	5		
	Médio	3	2	5	5		
	Apical	1	3	5	3		
3	Cervical	5	3	5	5		
	Médio	4	4	5	5		
	Apical	5	1	3	4		
4	Cervical	4	5	4	5		
	Médio	5	5	5	3		
	Apical	5	5	4	5		
Mediana		4	3	5	4.5		

* Controle + (irrigação passiva de NaOCl e EDTA)

** Controle - (nenhum procedimento)

Tabela 4 - Distribuição dos scores no terço cervical de cada grupo.

Espécime	Lima 50	MicroBrush	Escova	XP Endo
1	5	3	5	4
2	1	3	5	5
3	5	3	5	5
4	4	5	4	5
Mediana	2.5	3	5	5

Tabela 5 - Resultado do Teste de Kruskal-Wallis (Método Dunn) para as amostras do terço cervical:

H =	4.1576
Graus de liberdade =	3
(p) Kruskal-Wallis =	0.2449

Tabela 6 - Distribuição dos scores no terço médio de cada grupo.

Espécime	Lima 50	MicroBrush	Escova	XP Endo
1	1	2	3	4
2	3	2	5	5
3	4	4	1	5
4	5	5	3	5
Mediana	2.5	3	3	5

Tabela 7 - Resultado do Teste de Kruskal-Wallis (Método Dunn) para as amostras do terço médio:

H =	2.9417
Graus de liberdade =	3
(p) Kruskal-Wallis =	0.4007

Tabela 8 - Valores atribuídos ao terço apical em cada grupo.

Espécime	Lima 50	MicroBrush	Escova	XP Endo
1	2	5	5	1
2	1	3	5	3
3	5	1	3	4
4	5	5	4	5
Mediana	2	3	5	3

Tabela 9 - Resultado do Teste de Kruskal-Wallis (Método Dunn) para as amostras do terço apical:

H =	0.811
Graus de liberdade =	3
(p) Kruskal-Wallis =	0.8468

5.3 Análise da redução de carga microbiana

A tabela 7 demonstra abaixo os resultados encontrados na análise de redução de carga microbiana. Em S1, a contagem em CFU antes do procedimento de limpeza. Em S2, a contagem após o preparo mecânico com solução salina como irrigante, em seguida a diferença entre pós e antes procedimento.

Tabela 10 - Contagem de colônias antes (S1) e após procedimento (S2) e percentual de redução da carga microbiana – CFU.

	LIMA 50			Microbrush			Escova			XPEndo		
	S1	S2	Dif. S2-S1	S1	S2	Dif. S2-S1	S1	S2	Dif. S2-S1	S1	S2	Dif. S2-S1
Med	11740	151	-11589.6	10522	141	-10381.2	13967	101	-13866.4	14703	127	-14576
Desv Pad	±7825	±163	-7661.78	±7646	±176	-7469.51	±7619	±126	-7493.34	±8031	±195	-7835.9
Red. %	98.71%			98.66%			99.27%			99.13%		

A figura 27 apresenta o gráfico relativo ao experimento de redução da carga microbiana, baseado nas médias das diferenças encontradas entre S1 e S2 e transformadas em percentual.

Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk que mostrou que a distribuição amostral não era normal.

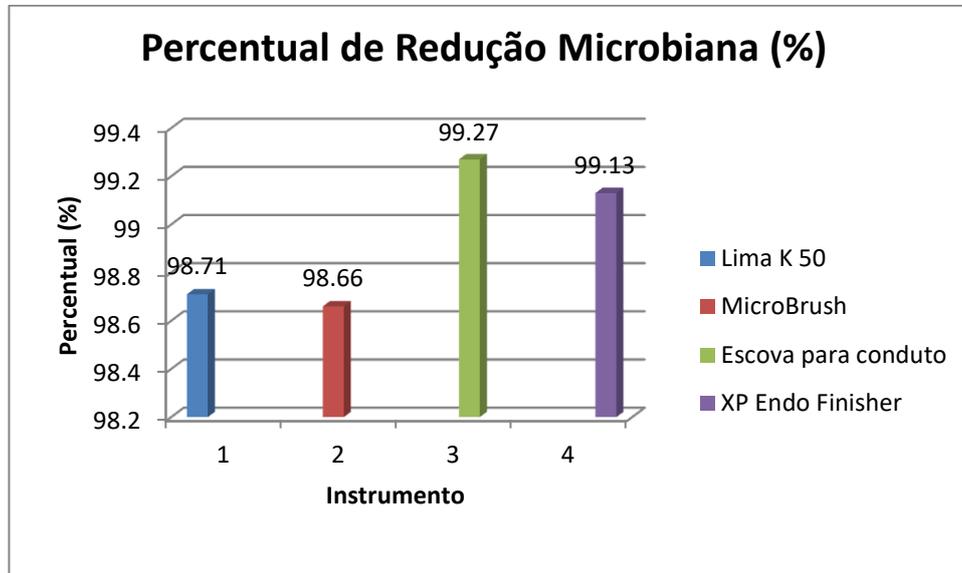


Figura 27 – Gráfico apresentando as médias das diferenças entre S1 e S2 (em percentual)

Tabela 11 - Resultado do Teste de Kruskal Wallis para a redução microbiana das amostras.

H=	3.2015
Graus de liberdade=	3
(p) Kruskal-Wallis=	0,3616

6 DISCUSSÃO

Os desafios que envolvem a Endodontia Regenerativa são muitos. Em especial, as expectativas de cada um dos envolvidos no processo: paciente, clínico e pesquisador. Para o paciente, o anseio é a manutenção do elemento dental, bem como a preservação de sua estética e função. Para o clínico, as expectativas envolvem atender aos anseios do paciente, buscando evidências clínicas e radiográficas que sustentem o restabelecimento da saúde e do processo de desenvolvimento radicular, valendo-se de técnicas e recursos viáveis. Para o pesquisador, o foco está em identificar e oferecer soluções que atendam tanto às expectativas do paciente, quanto do clínico, mas que também visem aprimorar os processos, tornando-os mais previsíveis e controláveis (Diogenes et al., 2013).

Assim, a discussão do momento tem sido em como apurar os processos da Endodontia Regenerativa para que de fato se induza à regeneração do tecido danificado, buscando-se compreender quais os fatores que interferem em seu sucesso. Saoud et al. (2016) discutiram os conceitos de regeneração e reparação em procedimentos de terapia regenerativa e comentaram que os casos de insucesso, nos quais os dentes puderam ser submetidos a análise histológica, a presença de células semelhantes a odontoblastos foi rara. Foi comum a presença de cementoblastos, fibroblastos e osteoblastos, configurando, portanto, um processo mais reparativo que propriamente regenerativo. Há indícios de que a presença bacteriana pode ser um indutor do processo reparativo, ao invés de regenerativo (Cameron et al., 2019).

Vários trabalhos demonstraram que o tecido que permitiu o aumento de espessura e comprimento das paredes radiculares de diversos dentes tratados com protocolos regenerativos foi cimento e osso. Diversos estudos têm sugerido que a

desinfecção ocupa um papel preponderante na boa condução da terapia regenerativa (Lin et al., 2014; Kim, 2016; Lin et al., 2017; Vishwanat et al., 2017; Cameron et al., 2019).

A presença microbiana no interior do sistema de canais radiculares produz inflamação dos tecidos apicais, alterando as dinâmicas circulatórias e celulares, disparando a produção de diversos mediadores químicos pró-inflamatórios, que podem ter efeitos deletérios sobre as células-tronco da papila apical (SCAP), desviando um processo que originariamente seria regenerativo, para reparativo, ou seja, o tecido danificado será substituído por outro que não o original. E ainda, o biofilme bacteriano aderido às paredes pode provocar danos à microestrutura da dentina e suas fibras colágenas, deixando a superfície erodida e irregular, o que pode dificultar ou impedir a adesão, proliferação e diferenciação das células-tronco formadoras do novo tecido (Kim, 2016).

Desse modo, do ponto de vista prático, a *American Association of Endodontists* (2016) definiu que os critérios de sucesso para um procedimento endodôntico regenerativo em dentes permanentes imaturos são: 1) remissão dos sinais e sintomas da infecção endodôntica, bem como resolução da destruição tecidual radiograficamente; 2) evidência radiográfica de aumento de espessura e comprimento das paredes radiculares; 3) resposta positiva ao teste de sensibilidade pulpar. Em tese, a resposta positiva ao teste de sensibilidade pulpar poderia significar que o tecido neoformado seria semelhante à polpa. Torabinejad & Faras (2012) relataram um caso clínico no qual foi utilizado o plasma rico em plaquetas (PRP) como *scaffold* e o tecido analisado histologicamente era semelhante à polpa dental, com presença de células semelhantes a odontoblastos. Portanto, apurar os processos que induzem à formação de novo tecido original tem sido o objetivo da

pesquisa científica na área, no intuito de garantir o sucesso e a longevidade dos dentes permanentes imaturos portadores de necrose pulpar. Na tríade que compõem a Engenharia Tecidual estão: ambiente, células-tronco e matriz nutricional (*scaffold*). Promover o controle da presença microbiana é etapa importante para o saudável ambiente para proliferação celular. Assim é que nos últimos anos a pesquisa vem se distribuindo ao longo desses três importantes fatores com o propósito de se encontrar soluções que melhorem os processos e o resultado final da terapia.

Nesse sentido, existem linhas de pesquisa buscando soluções em melhorar a qualidade das matrizes nutricionais, bem como enriquecer o ambiente em fatores de crescimento e biomoléculas sinalizadoras para a melhor diferenciação das células-tronco que formarão o novo tecido (Barroso et al., 2021). Há estudos na área de utilização de diferentes tipos de células-tronco com o objetivo de encontrar o perfil que melhor desenvolve tecido semelhante à polpa (Kim et al., 2018). E da mesma maneira, há pesquisa com o foco em aprimorar os processos de desinfecção do sistema de canais radiculares, pois as análises histológicas dos insucessos deixaram claro a presença bacteriana maciça aderida às paredes dos canais radiculares, bem como penetrando na intimidade da dentina.

Promover adequado controle microbiano no sistema de canais radiculares de dentes permanentes imaturos, com desenvolvimento radicular incompleto, se constitui em grande desafio por dois fatores limitadores importantes: 1) pouca espessura das paredes radiculares e, portanto, fragilidade da estrutura; 2) abertura foraminal ampla, favorecendo eventuais extravasamentos de solução irrigante, bem como de medicação intracanal (Lin et al., 2014; Kontakiotis et al., 2015; Galler et al., 2016). Contudo, em uma análise mais profunda, observa-se que a preocupação com

o primeiro fator acaba por se sobrepor ao cuidado com o segundo, já que se observa na literatura que os protocolos de desinfecção se concentram muito mais em regimes de irrigação de substâncias desinfetantes do que na utilização de medicação intracanal à base de compostos que, inclusive, podem ter efeitos tóxicos sobre as células mesenquimais da papila apical (Fouad, 2017; Ayoub et al., 2020). Os irrigantes preconizados como soluções à base de hipoclorito de sódio e clorexidina são potentes desinfetantes e, portanto, não possuem seletividade, sendo tóxicos não só para as células bacterianas, como também para as células humanas (Azim et al., 2017; Ayoub et al., 2020; Reis et al., 2020).

Diversos são os recursos pesquisados para utilização mais segura e controlada dos irrigantes, objetivando evitar ou limitar o eventual extravasamento, como por exemplo: dispositivos de pressão negativa, métodos de agitação de soluções químicas, modificações nas características das agulhas de irrigação, bem como a introdução da forma gel em substituição à forma líquida de tais substâncias, (Velmurugan et al., 2014; Kim, 2016; Gonçalves et al., 2016; Azim et al., 2017; Nesser & Bshara, 2019; Ayoub et al., 2020). Todavia, um ponto em comum nos diversos protocolos de terapia regenerativa da atualidade é a recomendação da utilização de grandes volumes de solução irrigante. A finalidade de seu uso é o arraste mecânico que o fluxo e o refluxo do líquido podem promover na superfície radicular, ajudando a romper e deslocar a massa orgânica aderida, bem como eliminar as partículas e células bacterianas que estejam livres e em suspensão no meio (Kontakiotis et al., 2015; Chaniotis et al., 2017).

Assim, a irrigação passiva é bastante sugerida em diversos protocolos. No esforço de aprimorar o deslocamento mecânico proporcionado pela irrigação, recentemente, métodos de agitação de tais soluções têm sido sugeridos como o uso

de correntes sônicas e ultrassônicas, lasers de baixa potência (PIPS) e instrumentos rotatórios de diferentes materiais. A agitação e o turbilhonamento do líquido são capazes de provocar pequenas correntes que exercem forças de cisalhamento sobre a massa orgânica aderida às paredes do canal radicular, rompendo e deslocando seu conteúdo, deixando-o em suspensão no meio e favorecendo sua remoção (Kim, 2016; Elnaghy et al., 2017; Turkeydin et al., 2017; Kaya et al., 2019; Pacheco-Yanes et al., 2020; Reis et al., 2020). O risco de extravasamento persiste, já que o turbilhonamento pode gerar pressões positivas que empurram o líquido para além do limite apical. Contudo, o volume extravasado pode ser bem menor, comparado com a irrigação passiva, já que a utilização de recursos de agitação pode permitir o uso de menor volume irrigante com efeito antimicrobiano comparável (Peters et al., 2018; Magni et al., 2021).

Outro recurso usado para se conseguir eficaz desinfecção é o uso de medicação intracanal. Desde a década de 60, com Ruler & Winter (1966), o uso de antibióticos intracanaís vem sendo estudado. Os defensores alegam o alto poder de desinfecção conseguida, de maneira seletiva, com pouca ou nenhuma toxicidade às células humanas (Hoshino et al., 1996). Contudo, existem preocupações no que diz respeito ao potencial de se induzir resistência bacteriana, como é comum a todo uso indiscriminado de tais substâncias, bem como estudos têm sido realizados demonstrando que tais medicamentos demonstraram produzir efeitos tóxicos sobre as células-tronco da papila apical, devendo ser utilizados em concentrações mínimas (Ruparel et al., 2012; Galler et al., 2015; Montero-Miralles et al., 2018; Cameron et al., 2019; Ayuoub et al., 2020). Em alternativa ao seu uso, o hidróxido de cálcio tem sido proposto como medicação intracanal de escolha por seu efeito antimicrobiano comprovado e por produzir efeito favorável às células-tronco, não

exibindo, portanto, toxicidade (Ruparel et al., 2012). Vários relatos de caso e série de casos foram publicados tendo o hidróxido de cálcio como medicação utilizada (Chen et al., 2011; Nosrat et al., 2013; Soares et al., 2013). Todavia, independente do tipo de medicação intracanal, quando da realização da consulta de terapia regenerativa propriamente dita (no qual será feita a indução de sangramento ou colocação de hemoderivado no interior do conduto), tal substância necessita ser removida com vistas à desobstrução dos túbulos dentinários e reentrâncias do canal, a fim de permitir adequada interação das novas células com o tecido dentinário. Outro detalhe importante é que vários fatores de crescimento e moléculas sinalizadoras encontram-se presentes na intimidade da dentina, sendo importante sua exposição às células mesenquimais trazidas da papila apical, permitindo o adequado direcionamento do processo de diferenciação celular (Galler et al., 2015). A preocupação em não promover o desgaste das estruturas radiculares fica bem definida ao se avaliar os dados do trabalho de Kontakiotis et al. (2015), que fazendo um levantamento na literatura endodôntica sobre os diversos protocolos regenerativos utilizados, encontraram que de 32 artigos analisados, 25 (78%) não utilizaram recursos mecânicos, centrando suas ações em substâncias químicas irrigantes e medicação intracanal. Sete estudos apenas (22%) mencionaram o uso de instrumentação, mas com a descrição “mínima” ou “suave”. Gonçalves et al (2016) demonstraram que preservar pré-dentina com mínima preparação mecânica pode fazer com que níveis maiores de fatores de crescimento sejam liberados, favorecendo a qualidade do processo de diferenciação celular. Hristov et al. (2020) demonstraram que o uso de limas manuais de aço inox remove 200% mais estrutura dentinária quando comparado com XP Endo Finisher® e GentleBrush (um dispositivo com cerdas).

Desta forma, um instrumento que promova desorganização da massa orgânica aderida às paredes do canal, bem como a remoção das partículas sólidas de tais medicações, sem, contudo, desgastar a estrutura dentinária, provocando sua fragilização, pode ser de grande valia. Sasanakul et al. (2019) demonstraram que a agulha de irrigação Navitip FX (Ultradent), que possui cerdas ao seu redor, produziu melhores resultados de redução de carga microbiana em condutos contaminados com *Enterococcus faecalis*. Elnaghy et al. (2017) verificaram que o XP Endo Finisher® promoveu melhor remoção de pasta diatibiótica da dentina dos espécimes in vitro avaliados que as limas K testadas. Turkeydin et al. (2017) também observou melhor desempenho do XP Endo Finisher® em remover medicação intracanal, quando comparado com irrigação ultrassônica passiva e limpeza convencional. Kaya et al. (2019) verificaram em estudo in vitro que nenhum dos recursos mecânicos testados promoveu total eliminação de *E. faecalis* dos canais radiculares inoculados. Contudo, XP Endo Finisher® apresentou os melhores resultados de redução de carga microbiana. Keir et al. (1990) introduziram o conceito de utilização de escovas com o propósito de melhorar o grau de limpeza das paredes dentinárias pós-preparo mecânico. Salman et al. (2010), Gorduysus et al. (2012) e Markovic et al. (2015) avaliaram o desempenho de uma escova à base polipropileno (CanalBrush – ROEKO) e observaram bons resultados tanto no grau de limpeza pós-preparo, quanto na remoção de pasta de hidróxido de cálcio. Contudo, há que se registrar que os testes envolvendo instrumentos com cerdas se limitaram a apenas dentes permanentes com raízes devidamente formadas, já que o dispositivo foi desenhado inicialmente para melhorar a limpeza em tratamentos endodônticos convencionais. Dentes permanentes jovens, com ápice aberto, são portadores de condutos amplos, com diâmetro em muito superiores aos seus

similares maduros. Desta forma, a ideia de uma escova que possa promover a necessária desorganização mecânica do biofilme bacteriano e resíduos orgânicos em condutos amplos, como de dentes permanentes imaturos, sem desgastar a parede dentinária e provocar danos à pré-dentina fica condicionada ao desenvolvimento de instrumentos que tenham diâmetro maior que a CanalBrush.

A empresa brasileira MK Life recentemente colocou no mercado uma escova com o propósito de promover limpeza das paredes dos condutos previamente à cimentação adesiva de retentores intracanaís. Todavia, ao realizarmos as medições das dimensões do referido instrumento veio à tona a possibilidade de utilização de tal dispositivo para promover o debridamento mecânico de canais amplos e sem curvatura, como costumam ser os condutos de dentes permanentes jovens, com desenvolvimento radicular incompleto. Com um diâmetro de tufo de cerdas de 2 mm, equivalendo a um tamanho de instrumento ISO nº 200, pensamos ser um interessante recurso a ser testado para tais casos. Um detalhe importante é que o instrumento XP Endo Finisher® tem sido testado com sucesso em situações semelhantes por possuir a característica de se deformar, quando em contato com a temperatura corporal, e tal deformação, em formato de colher, promover maior movimentação do líquido, bem como contato da superfície do instrumento com a parede do canal, ajudando a deslocar a massa orgânica. No entanto, em termos de custos no mercado brasileiro, uma unidade de XP Endo Finisher® custa em torno de R\$ 240,00, enquanto uma unidade da Escova Profilática para conduto® MK Life, R\$ 8,90 (dados de cotação do dia 07/02/2022).

Em nosso estudo as escovas obtiveram resultados semelhantes ao XP Endo Finisher®, o que é muito interessante para ser usado como alternativa no serviço público.

A ideia de se pensar em instrumentos que tenham ação não-invasiva, de não desgastar a dentina, também nos fez chegar ao *microbrush* Aplik Extrafino® (Angelus). Analisando suas dimensões, também foi verificado que poderia se enquadrar na limpeza de condutos amplos, já que o diâmetro de seu tufo possui em torno de 1,5 mm (equivalente a um instrumento tamanho ISO nº 150). Em cotação recente, uma embalagem com cem unidades custa entre R\$14,90 e trinta reais. Nossos resultados demonstraram que nos três critérios investigados o desempenho do *microbrush* foi similar ao dos recursos tradicionais.

Embora as etapas operatórias da presente pesquisa tenham sido conduzidas por um único operador, especialista em Endodontia há 25 anos, outro fator que nos moveu foi a viabilidade e facilidade de execução das técnicas com Escova e *microbrush*. Enquanto o XP Endo Finisher® necessita de um recurso específico, o motor endodôntico elétrico, por demandar parâmetros específicos de torque e velocidade para seu uso seguro, sem fraturas, a Escova, embora tenha sido utilizada nos mesmos moldes por uma questão de padronização, foi desenhada para ser usada em micromotor convencional. E a utilização do *microbrush* foi feita de maneira manual, em movimentos de escovação das paredes, o que certamente reduz mais ainda seus custos operacionais de utilização, bem como o treinamento de profissionais para sua adequada utilização.

A metodologia utilizada para investigar as possibilidades de uso dos novos recursos (Escova Profilática para conduto® e *microbrush* Aplik Extrafino®) com os já conhecidos na literatura endodôntica (lima K e XP Endo Finisher®) envolveu três etapas de pesquisa. De maneira geral, uma padronização inicial no tipo dentário (pré-molares inferiores), tamanho, formato e diâmetro dos espécimes foi realizada com o intuito de controlar eventuais variáveis relativas à anatomia dos condutos. Por

essa razão os dentes tiveram sua porção apical seccionada na altura de 15 mm, tendo como referência a cúspide lingual do pré-molar, buscando preservar as coroas para simular a situação mais próxima possível da clínica. Cirurgia de acesso com pelo menos 2,5 mm de diâmetro também foi realizada para que eventuais impedimentos à plena entrada e acesso dos instrumentos ao canal fossem evitados. Os condutos foram explorados e alargados inicialmente com limas finas e depois com rotatórias mais robustas para permitir o melhor trânsito da broca de Gates nº 5, que tinha a tarefa de padronizar o diâmetro dos condutos em 1,3 mm (equivalente a um instrumento ISO nº 130) em toda a sua extensão.

A primeira investigação objetivou analisar a extrusão de irrigante. Para tanto, conforme Reis et al. (2020) foi desenhado um experimento de caráter não-destrutivo das amostras, fazendo com que estas fossem utilizadas com cada um dos recursos testados, buscando padronizar eventuais variáveis relativas aos espécimes. Assim, cada espécime era controle de si mesmo. Baseado nos estudos de Myers & Montgomery (1991) e Nesser & Bshara (2019) foi montado um aparato incluindo os dentes em eppendorf, contendo gelatina e com uma pequena lâmina de cera de dois milímetros de diâmetro aderida à sua saída foraminal, com a intenção de, após presa da gelatina, ser removida para deixar espaço simulando a papila apical. Cada conjunto foi pesado em balança de precisão antes e após cada procedimento, no momento da execução dos mesmos. Devido à alta precisão da balança, no ato de posicionar o conjunto para pesagem, registrou-se o numeral que se manteve estável no *display* por 5 segundos. Todo o irrigante usado com todos os instrumentos foi aquecido à temperatura de 36,5°C, para permitir a ativação da memória de forma do instrumento XP Endo Finisher®, bem como para não haver eventuais diferenças em relação aos outros recursos usados. Cada conjunto foi montado em um pequeno

torno com inclinação aproximada de 45° para simular a posição do dente em situação clínica, além de facilitar o manuseio dos instrumentos testados. Os pesos foram registrados em gramas (g) e transformados em mililitro (mL), conforme a fórmula de Nesser & Bshara (2019). O tempo foi padronizado em um minuto e vinte segundos, para simular as condições clínicas dos protocolos de agitação de solução química que prescrevem vinte segundos de ação do instrumento a cada renovação de líquido. Vinte segundos a mais foram adicionados para compensar os momentos de sucção do irrigante, a cada ciclo de 20 s, que exigiam a troca de manuseio do instrumento com do aspirador e da seringa.

Os resultados desse experimento mostraram que a Escova promoveu mais extravasamento que os outros recursos usados (média de 0,053 mL) e corroboraram as observações de Peters et al. (2018) que relataram que a extrusão de irrigante pode ser consequência de vários fatores como diâmetro e cinemática do instrumento usado. Embora não tenha havido diferença estatística significativa, o XP Endo Finisher® apresentou os menores níveis de extrusão (0,008 mL, comparado com 0,014 mL do microbrush Aplik e 0,027 mL provocado pela lima K n° 50), repetindo resultados semelhantes de Reis et al. (2020) e Magni et al. (2021) que também mostraram menor extrusão provocada pelo XP Endo Finisher®, usando metodologias diferentes. Interessante observar que, quando da realização do experimento, a utilização do XP Endo Finisher® gerou muitas bolhas, dando um aspecto de que o conteúdo do líquido ficou aerado, bem como a agitação fez com que o líquido espirrasse pequenas quantidades no entorno. Esse efeito foi levemente identificado quando da utilização da Escova, porém somente quando da introdução da escova no conduto. A maior extrusão de irrigante pela Escova, comparado com os outros recursos, pode ser em decorrência de seu diâmetro ser

bem superior ao diâmetro padronizado do conduto, isso pode ter induzido uma dobra nessa extensão das cerdas, produzindo uma massa densa que reduziu o espaço para o líquido refluir para a embocadura do canal e acabar favorecendo o extravasamento. Por outro lado, o XP Endo Finisher® por possuir pequeno diâmetro (0,25 mm), sem conicidade progressiva ao longo de sua ponta ativa, mesmo com deformação que amplia seu alcance para 1,5 mm de diâmetro ao girar, permite muito mais espaço para o refluxo do irrigante para cervical. O uso do *microbrush* Aplik Extrafino® promoveu extrusão menor (0,014 mL) que em relação a lima K (0,027 mL), em movimentos de tração de viés, o que pode ser considerado um resultado promissor para um dispositivo que ainda não tem o desenho ideal para a aplicação a que foi submetido. Eventuais modificações podem ser sugeridas e realizadas com o intuito de desenvolver um *microbrush* específico e que atenda às necessidades e exigências do procedimento regenerativo.

Quando da análise por microscopia eletrônica de varredura, os mesmos conjuntos de espécimes e eppendorf usados no experimento de extrusão foram usados. Com o detalhe que foi acrescentada a agitação com 5 mL de EDTA, objetivando avaliar qual recurso mecânico no regime completo de irrigação poderia fornecer os melhores resultados. Assim, o experimento com a irrigação com 5 mL de hipoclorito de sódio a 2,5% foi repetido, variando-se o recurso mecânico a cada quatro espécimes e em seguida, o passo com a irrigação de EDTA foi realizado. Desta forma, os grupos foram compostos de quatro espécimes. Após a clivagem dos dentes, os mesmos foram desidratados e metalizados para a análise. Inicialmente, 22 imagens foram feitas aleatoriamente dos três terços de alguns espécimes justamente para permitir o treinamento e calibração dos avaliadores. Os parâmetros de atribuição de scores de Turkeydin et al. (2017) foram adaptados para melhor se

encaixar no presente estudo, pois no estudo citado os intervalos de cada *score* eram muito amplos. Assim, foi elaborado um novo critério. As imagens foram geradas inicialmente em 10x para permitir a visualização total do espécime, bem como das marcas realizadas em cada região. Assim que a região foi identificada, aumentou-se a magnificação para 1500x para realizar a captura da imagem. O teste *kappa* para avaliação da calibração intra-observador e inter-observador foi realizado comparando ambas as avaliações realizadas pelos dois observadores com espaço de tempo de uma semana entre a primeira e a segunda análise. A primeira avaliação teve 0,687 e a segunda, 0,652. As diferenças intra-observador foram 0,712 e 0,683, respectivamente.

Na análise dos resultados, independente do terço observado, os valores dos *scores* atribuídos aos grupos são muito próximos uns aos outros, podendo-se dizer que, do ponto de vista das regiões estudadas, os recursos mecânicos se equivalem em promover remoção de debris e permitir a exposição dos túbulos dentinários. Os números absolutos podem sugerir uma discreta vantagem da Escova, contudo não se pode concluir em função do pequeno número de amostras. Em todo caso, no que diz respeito ao desempenho dos recursos experimentais, a equivalência de números com instrumentos e técnicas já consagradas endodonticamente indica resultados promissores para a proposta aqui apresentada.

Na terceira investigação do presente estudo, o objetivo foi avaliar qual instrumento promove maior redução de carga microbiana. Assim, para que pudéssemos ter avaliação real do impacto do recurso mecânico na capacidade de desinfecção dos canais radiculares, decidiu-se usar irrigação somente com solução salina. Se por um lado o uso de instrumentos associado aos irrigantes de ação desinfetante utilizados tradicionalmente em endodontia podem simular condições

mais próximas da realidade clínica, no caso específico da avaliação de desempenho de novas propostas, tal utilização poderia mascarar eventuais diferenças e apontar direções equivocadas. Kaya et al. (2018) realizaram um estudo para comparação de desempenho do XP Endo Finisher® com outros instrumentos rotatórios, usando da indução de formação de biofilme de *E. faecalis* em dentes extraídos e também usaram solução salina. Carvalho et al. (2018) também induziram biofilme in vitro da mesma espécie bacteriana e compararam dois instrumentos rotatórios quanto à redução de presença bacteriana, variando a solução irrigante (hipoclorito de sódio a 2,5% ou solução salina) e a utilização ou não, ao final do preparo, de XP Endo Finisher® para promover agitação mecânica. Os resultados mostraram que mesmo com a utilização de solução salina, o preparo mecânico por si só foi capaz de produzir diminuição da população microbiana, conforme também verificamos em nossos achados. E que a utilização do XP Endo Finisher® ao final potencializou o efeito antimicrobiano, mesmo nos espécimes nos quais solução salina foi usada. Em tempo, uso da solução de hipoclorito de sódio a 2,5% em associação com a agitação por XP Endo Finisher® foi o que apresentou melhores resultados. Contudo, Sasanakul et al. (2019) realizaram um experimento no qual também induziram a formação de biofilme de *E. faecalis* para análise da redução de carga microbiana em dentes extraídos e testaram a irrigação passiva de soluções de NaOCl a 1,5% e 2,5% com suas associações com PUI, Navitip FX, XP Endo Finisher®, Self Adjustment File (SAF), imagem circunferencial com lima K n° 50 e sequência de preparo com limas K de n° 90 a 110. Os resultados mostraram que a presença da solução a 2,5% melhoraram muito a redução microbiana provocada por todos os recursos, mas a agulha Navitip NF, com suas cerdas e em movimento de escovação

das paredes a cada irrigação foi a que forneceu os melhores resultados, com a vantagem de não ter provocado desgaste na dentina.

Como um dos instrumentos em teste dependia de temperatura específica para alcançar o melhor de seu desempenho, a solução salina usada em nosso experimento foi aquecida a 36,5°C e da mesma forma assim foi feito para os outros grupos.

A escolha pelo *Enterococcus faecalis* como agente microbiano escolhido para o desenvolvimento do presente estudo foi devido ao objetivo de se buscar o máximo de similaridade com as condições clínicas. O *E. faecalis* é um coco anaeróbio facultativo, gram positivo, encontrado na microbiota do sistema de canais radiculares, que se organiza em biofilme, de relativa facilidade de cultivo em laboratório e que tem sido bastante relacionado com as infecções endodônticas persistentes. Ademais, sua utilização como modelo experimental em endodontia é amplamente aceita e consagrada (Kaya et al, 2018; Sasanakul et al., 2019).

Na contagem de colônias na segunda amostra colhida, ao final do preparo mecânico, foram observados os seguintes índices percentuais de redução: Escova Proflática para conduto (99,27%), XP Endo Finisher® (99,13%), lima K n° 50 (98,71%) e *microbrush* Aplik Extrafino® (98,66%). Os resultados mostraram mais uma vez que os recursos se equivalem, quando se comparou a redução microbiana proporcionada pelos diferentes instrumentos e que a utilização de recurso mecânico teve grande impacto na desinfecção, mesmo sem a utilização de uma substância irrigante. Mais uma vez pequena vantagem nos números relativos à Escova, porém mais uma vez o baixo número amostras impede que essa vantagem seja real. Com relação ao *microbrush*, mais um resultado promissor em se tratando de recurso experimental e que originariamente não foi desenhado para esse fim. De especial

interesse, observamos que tanto a Escova, quanto o *microbrush*, ao término do procedimento, apresentavam suas cerdas com coloração amarronzada, como se alguma sujidade ficasse impregnada. Por razões óbvias, o mesmo efeito não pode ser visualizado nas limas K e nas unidades usadas de XP Endo Finisher®. Também não foi visualizada deformação das cerdas da Escova, após sua utilização, efeito muito comentado sobre a CanalBrush nos estudos de Gorduysus et al. (2012) e Markovic et al. (2015). Contudo, todo *microbrush* Aplik usado nos experimentos apresentou deformação de suas cerdas ao fim de sua utilização.

De maneira geral, o desempenho dos instrumentos testados foi semelhante, à exceção da extrusão de irrigante provocada pela Escova Profilática para conduto®. A utilização de recursos mecânicos para debridamento das paredes de canais radiculares infectados em dentes com necrose pulpar e desenvolvimento radicular incompleto pode permitir a redução dos volumes de irrigantes utilizados, possibilitando assim a redução de eventuais volumes extravasados. No entanto, o impacto clínico de tal nível de extrusão provocado pela Escova neste experimento, ainda deverá ser alvo de novas investigações.

Porém, sua utilização, bem como do *microbrush* Aplik Extrafino® teve desempenho similar aos consagrados no meio endodôntico no que diz respeito à análise de limpeza por MEV e redução de carga microbiana.

Comparando-se custos de tais instrumentos, com os melhores resultados na literatura endodôntica, o XP Endo Finisher®, as alternativas propostas por esse trabalho parecem ser promissoras e futuras modificações podem ser desenvolvidas para aprimorar a performance e contribuição de tais recursos experimentais ao processo de desinfecção em Endodontia Regenerativa.

Uma hipótese a ser testada é verificar o impacto da associação de dois ou mais recursos não-invasivos como os aqui investigados na redução de carga microbiana e qualidade de limpeza das paredes. Também há que se acrescentar que além da viabilidade econômica de sua utilização, a Escova Profilática para conduto® e o *microbrush* Aplik Extrafino® se mostraram recursos simples de serem utilizados, com boa possibilidade de multiplicar sua utilização em treinamentos de curta duração para eventual implantação nas unidades básicas de saúde, para atendimento da população.

Contudo, os resultados aqui demonstrados não devem ser extrapolados para a utilização clínica, pois estes apontam para uma direção a ser seguida ainda em diversos estudos futuros.

7 CONCLUSÕES

Dentro das condições estabelecidas para o presente estudo, pareceu-nos lícito concluir que:

- A Escova Profilática para conduto® promoveu maior extrusão de irrigante, quando comparada ao XP Endo Finisher®. Porém, foi estatisticamente semelhante aos grupos: Lima K n° 50 e *microbrush* Aplik Extrafino®.
- Não houve diferença significativa na avaliação por microscopia eletrônica de varredura do grau de limpeza das paredes entre os quatro recursos testados.
- Não houve diferença significativa na redução de carga microbiana promovida pelos quatro métodos testados.
- Os métodos de limpeza mecânica testados por si só foram eficazes em reduzir substancialmente a carga microbiana de *Enterococcus faecalis*.

REFERÊNCIAS¹

1. Galler KM, Krastl G, Simon S, Van Gorp G, Meschi N, Vahedi B, Lambrechts P. European Society of Endodontology position statement: Revitalization procedures. *Int Endod J.*, 2016;49:717-723.
2. Shah N, Logani A, Bhaskar U, et al. Efficacy of revascularization to induce apexification/apexogenesis in infected, nonvital, immature teeth: a pilot clinical study. *J Endod.*, 2008;34:919-925.
3. Diogenes A, Henry M, Teixeira F, Hargreaves K. An update in clinical regenerative endodontics. *Endodontics Topics.*, 2013;28:2-23.
4. Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol.*, 2001;17(4):185-7.
5. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod.*, 2004;30(4):96-200.
6. Torabinejad M, Faras H. A clinical and histological report of a tooth with an open apex treated with regenerative endodontics using platelet-rich plasma. *J Endod.*, 2012;38(6):864-8.
7. Lin L, Shimizu E, Gibbs J, Loghin S, Ricucci D. Histologic and histobacteriologic observations of failed revascularization/revitalization therapy: a case report. *J Endod.*, 2014;40:291-295.
8. Vishwanat L, Duong R, Takimoto K, Phillips L, Espitia C, Diogenes A, Ruparel S, Kolodrubetz D, Ruparel N. Effect of Bacterial Biofilm on the Osteogenic Differentiation of Stem Cells of Apical Papilla. *J Endod.*, 2017;43:916-922.
9. American Association of Endodontists. *AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure*. [editorial], 2016. [citado 2020 Feb 20]. Disponível em: URL:<http://www.aae.org/clinicalresources/regenerativeendodontics/considerationsforregenerativeprocedures.aspx>
10. Nygaard-Ostby B. The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. *Acta odont. scand.*, 1961;19:323-3 53.
11. Rule DC, Winter GB. Root growth and apical repair subsequent to pulpal necrosis in children. *Br Dent J.*, 1966;120:586-590.
12. Nygaard-Ostby B, Hjortdal O. Tissue formation in the root canal following pulp removal. *Scand. J. dent. Res.*, 1971;79:333-349.
13. Kahler B, Mistry S, Moule A, et al. Revascularization outcomes: a prospective analysis of 16 consecutive cases. *J Endod.*, 2014;40:333-338.

¹- Referências elaboradas de acordo com o modelo Vancouver.

14. Chen M, Chen K, Chen C, Tayebati F, Rosenberg P, Lin L. Responses of immature permanent teeth with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures. *Int Endod J.*, 2011;45:294-305.
15. Jeeruphan T, Jantararat J, Yanpiset K, et al. Mahidol study 1: comparison of radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods - a retrospective study. *J Endod.*, 2012;38(10):1330-1336.
16. Bukhari S, Kohli M, Setzer F, Karabucak B. Outcome of revascularization procedure: a retrospective case series. *J Endod.*, 2016;42(12):1752-1759.
17. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod.*, 2010;36(8):1277-88.
18. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.*, 2006;35:389-398.
19. Gazzaneo I, Vieira G, Pérez A, Alves F, Gonçalves L, Mdala I, Siqueira JrJ, Roças I. Root canal disinfection by single and multiple instrument systems: effects of sodium hypochlorite volume, retention and retention time. *J Endod.*, 2019;45:736-741.
20. Latham J, Fong H, Jewet A, Johnson J, Paranjpe A. Disinfection Efficacy of Current Regenerative Endodontic Protocols in Simulated Necrotic Immature Permanent Teeth. *J Endod.*, 2016;42(8):1218-25.
21. Zeng Q, Nguyen S, Zhang H, Chebrolu H, Alzebdeh D, Badi M, Kim J, Ling J, Yang M. Release of growth factors into root canals by irrigations in regenerative endodontics. *J Endod.*, 2016;42:1760-1766.
22. Zizka R, Sedy J. Paradigm Shift from Stem Cells to Cell-Free Regenerative Endodontic Procedures: A Critical Review. *Stem Cells and Development.*, 2017;26:147-153.
23. Lin J, Zeng Q, Wei X, Zhao W, Cuy M, Gu J, Jiakuan L, Yang M, Ling J. Regenerative Endodontics Versus Apexification in Immature Permanent Teeth with Apical Periodontitis: A Prospective Randomized Controlled Study. *J Endod.*, 2017;43:1821-1827.
24. Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin L, Huang G. Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. *J. Endod.*, 2010;36:56–63.
25. Gomes-Filho JE, Duarte PC, Ervolino E, Mogami Bomfim SR, Xavier Abimussi CJ, Mota da Silva Santos L, Lodi CS, Penha De Oliveira SH, Dezan E, Cintra LT. Histologic characterization of engineered tissues in the canal space of closed-apex teeth with apical periodontitis. *J. Endod.*, 2013;39:1549-1556.

26. Becerra P, Ricucci D, Loghin S, Gibbs JL, Lin L. Histologic study of a human immature permanente premolar with chronic apical abscess after revascularization/revitalization. *J. Endod.*, 2014;40:133-139.
27. Kim S. Infection and pulp regeneration. *Dent. J.*, 2016;4(4):1-13.
28. Chaniotis A. Treatment options for failing regenerative endodontic procedures: report of 3 cases. *J. Endod.*, 2017;43:1472-1478.
29. Cameron R, Espitia C, Ping W, Erin S, Ruparel N. Effect of a Residual Biofilm on Release of Transforming Growth Factor β 1 From Dentin. *J Endod.*, 2019;45:1119-1125.
30. Windley W, Teixeira F, Levin L, Sigurdsson A, Trope M. Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. *J. Endod.*, 2005;31(6):439-443.
31. Soares A de J, Lins FF, Nagata JY, et al. Pulp revascularization after root canal decontamination with calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel. *J Endod.*, 2013;39:417-20.
32. Nosrat A, Li KL, Vir K, et al. Is pulp regeneration necessary for root maturation? *J Endod.*, 2013;39:1291-5.
33. Martin G, Ricucci D, Gibbs JL, Lin LM. Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. *J Endod.*, 2013;39:138-44.
34. Myers G, Montgomery S. A Comparison of weights of debris extruded apically by conventional filing and canal master techniques. *J Endod.*, 1991;17(6):275-279.
35. Reis S, Cruz V, Duarte M, Bueno C, Vivian R, Pelegrine R, Bruno K, Kato A. Volumetric Analysis of Irrigant Extrusion in Immature Teeth after Different Final Agitation Techniques. *J Endod.*, 2020;46(5):682-687.
36. Hristov K, Gateva N, Stanimirov P, Ishkitiev N, Doitchinova I. Comparative analysis of root dentin loss when using modern mechanical clinical instruments in immature permanente teeth. *Folia Med (Plovdiv)*, 2020;62(2):352-357.
37. Magni E, Jaggi M, Eggman F, Weiger R. Apical pressures generated by several canal irrigation methods: a laboratory study in a maxillary central incisor with open apex. *Int Endod J.*, 2021;54:1937-1947.
38. Kaya B, Erik C, Cetin E, Kole M, Maden M. Mechanical reduction in intracanal *Enterococcus faecalis* when using three different single-file systems: an ex vivo comparative study. *Int Endod J.*, 2019;52:77-85.
39. Vaz-Garcia E, Vieira V, Petitet N, Moreira E, Lopes H, Elias C, Silva E, Antunes H. Mechanical properties of anatomic finishing files: XP Endo Finisher® and XP Clean. *Braz Dent J.*, 2018;29(2):208-213.

40. Turkeydin D, Demir E, Basturk F, Ovecoglu S. Efficacy of XP-Endo Finisher in the Removal of Triple Antibiotic Paste from Immature Root Canals. *J Endod.* 2017;43:1528-1531.
41. Elnaghy A, Mandorah A, Shaymaa E. Effectiveness of XP-endo Finisher, EndoActivator, and File Agitation on Debris and Smear Layer Removal in Curved Root Canals: A Comparative Study. *Odontology.*, 2017;105:178-183.
42. Pacheco-Yanes J, Provenzano J, Marceliano-Alves M, Gazzaneo I, Pérez A, Gonçalves L, Siqueira JrJ. Distribution of Sodium Hypochlorite Throughout the Mesial Root Canal System of Mandibular Molars After Adjunctive Irrigant Activation Procedures: A Micro-Computed Tomographic Study. *Clin Oral Investig.*, 2020;24:907-914.
43. Kontakiotis E, Filippatos C, Tzanetakakis G, Agrafioti A. Regenerative endodontic therapy: a data analysis of clinical protocols. *J Endod.*, 2015;41(2):148-153.
44. Chandram A, Gaffoor F, Gopakumar R, Girish S, Soumya S, Nair M. Comparison of the Efficacy of K-File, Canal Brush Technique, and Sonic Irrigation Technique in the Retrievability of Calcium Hydroxide and Metapex Intracanal Medicaments from Root Canals: An In vitro Cone-Beam Computed Tomography Analysis. *J Pharm Bioallied Sci.*, 2021;13:S496-S500.
45. Sasanakul P, Ampornaramveth R, Chivatxaranukul P. Influence of Adjuncts to Irrigation in the Disinfection of Large Root Canals. *J Endod.*, 2019;45:332-337.
46. Angelus. Aplik: microaplicadores descartáveis. Angelus, 2020. [editoria]. [citado 2020 Out 27]. Disponível em: <https://angelus.ind.br/produto/aplik/>.
47. Keir D, Senia S, Montgomery S. Effectiveness of a brush in removing post-instrumentation canal debris. *J. Endod.*, 1990;16(7):323-327.
48. Salman M, Baumann M, Hellmich M, Roggendorf M, Termaat S. SEM evaluation of root canal debridement with Sonicare CanalBrush irrigation. *Int Endod J.*, 2010;43:363-369.
49. Gorduysus M, Yilmaz Z, Gorduysus O, Atila B, Karapinar S. Effectiveness of a new canal brushing technique in removing calcium hydroxide from the root canal system: A scanning electron microscope study. *J Conserv Dent.*, 2012;15(4):367-371.
50. Markovic L, Booth F, Zimmer S. Use of the CanalBrush improves removal of calcium hydroxide paste from instrumented straight root canals. *J Dent Sciences.*, 2015;10:233-239.
51. MK Life. Escova Profilática para conduto®. MK Life, 2022. [editoria]. [citado 2022 Fev 22]. Disponível em: <https://www.mklife.com.br/profilaxia/escovas/escova-p-conduto.html>.

52. Gonçalves L, Fernandes A, Cosme-Silva L, Colombo L, Martins N, Oliveira T, Araujo T, Sakai V. Effect of EDTA on TGF- β 1 release from the dentin matrix and its influence on dental pulp stem cells. *Braz. Oral Res.*, 2016;30(1):e131.
53. Chrepa V, Joon R, Austah O, Hargreaves K, Elzedeem M, Ruparel N. Clinical outcomes of immature teeth treated with regenerative endodontic procedures – A San Antonio Study. *J Endod.*, 2020;46:1074-1084.
54. Peters H, Suardita K, Mooduto L, Gutknech N. Extrusion of irrigant in open Apex teeth with periapical lesions following laser-activated irrigation and passive ultrasonic irrigation. *Iran Endod J.*, 2018;13(2):169-175.
55. Brasil. Ministério da Saúde. Sisab, 2021. [citado 2022 Fev 22]. Disponível em: <https://susab.saude.gov.br/paginas/ acessoRestrito/relatorio/federal/saude/RelSauPr oducao.xhtml>.
56. Nesser SF, Bshara NG. Evaluation of the apical extrusion of sodium hypochlorite gel in immature permanente teeth: an in vitro study. *Dent Med Probl.*, 2019; 56(2):149-153.
57. Ruparel N, Teixeira F, Ferraz C, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *J Endod.*, 2012;38(10):1372–1375.
58. Montero-Miralles P, Martín-González J, Alonzo-Espeleta O, Jiménez-Sanchez M, Segura-Egea J. Effectiveness and clinical implications of the use of topical antibiotics in regenerative endodontic procedures: a review. *Intl Endod J.*, 2018;51(9):981–988.
59. Saoud T, Martin G, Chen Y, Chen K, Chen C, Songtrakul K, Malek M, Sigurdsson A, Lin L. Treatment of mature permanent teeth with necrotic pulps and apical periodontitis using regenerative endodontic procedures: a case series. *J Endod.*, 2016;42:57-65.
60. Kim S, Malek M, Sigurdsson A, Lin L, Kahler B. Regenerative endodontics: a comprehensive review. *Int Endod J.*, 2018;51(12):1367-1388.
61. Barroso L, Khurshid Z, Baroudi K. Biomolecules and growth factors for endodontic regeneration. In: Khurshid Z, Zafar M, Najeeb S. Biomaterials in Endodontics. Duxford: Woodhead Publishing; 2021.
62. Fouad A. Microbial factors and antimicrobial strategies in dental pulp regeneration. *J Endod.*, 2017;43(9S):S46-S50.
63. Ayoub S, Cheayto A, Bassam S, Najjar M, Bérberi A, Fayyad-Kazam M. The effects of intracanal irrigants and medicaments on dental-derived stem cells fate in regenerative endodontics: an update. *Stem Cell Rev Rep.*, 2020;16(4):650-660.

64. Azim A, Aksel H, Jefferson M, Huang G. Comparison of sodium hypochlorite extrusion by five irrigation systems using an artificial root socket model and a quantitative chemical method. *Clin Oral Invest.*, 2017;22(2):1055-1061.

65. 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;11(4):433-439.

APÊNDICE – Distribuição da contagem de colônias de acordo com cada espécime em cada grupo

Espécime	LIMA 50			Microbrush			Escova			XPEndo		
	S1	S2	S2-S1	S1	S2	S2-S1	S1	S2	S2-S1	S1	S2	S2-S1
1	6793	3.8	-6789	5228	16	-5211.7	24600	8	-24592	10175	20.5	-10155
2	5040	5.5	-5034	26300	5.6	-26294	5698	411	-5287	22600	2	-22598
3	3819	13	-3805	10143	9.1	-10133	9955	1.5	-9953	6986	688	-6297
4	5729	14	-5715	3756	413	-3342	22893	4.8	-22888	29200	4	-29196
5	8793	407	-8386	9576	105	-9471	4598	77	-4521	7634	97	-7537
6	18753	261	-1849	4379	26	-4353	8738	34	-8704	14364	58	-14306
7	9502	59	-9443	9777	381	-9396	15741	145	-15596	11279	62	-11217
8	24172	175	-2399	6116	479	-5637	17562	201	-17361	12980	193	-12787
9	23505	101	-2340	10924	59	-10865	3971	16	-3955	4352	28	-4324
10	21525	422	-2110	4928	105	-4823	24825	42	-24783	10290	87	-10203
11	7448	329	-7119	9480	80	-9400	12091	235	-11856	20277	279	-19998
12	5802	18	-5784	25654	8	-25646	16934	35	-16899	26300	9	-26291
Média	11740	151	-1158	10521	141	-10381	13967	101	-13866	14703	127	-14576
Desv Pad	7824	163		7645	176		7618	126		8031	195	
Red MÉD (%)	98.71%			98.66%			99.27%			99.13%		

ANEXO – DOCUMENTOS DE AUTORIZAÇÃO DA PESQUISA



Universidade de Taubaté
Autarquia Municipal do Sistema Estadual
Reconhecida pelo Doc. F nº 78.624/78
Reconhecida pelo CEEESP
CNPJ 43.179.153/0001-22

Reitoria
Rua 4 de Março, 452 - Centro - Taubaté SP - 13201-270
Tel: (13) 204 4100 - Fax: (13) 204 3000 - www.unitauparabens.br

Departamento de Odontologia
Rua Espinosa, 110 - Centro - CEP: 13200-000
Taubaté - SP

Departamento de Odontologia

Banco de Dentes Humanos

Declaração ao comitê de ética em pesquisa

Para fins de avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) dessa instituição, o Banco de Dentes Humanos da UNITAU compromete-se, mais uma vez, a auxiliar pesquisadores na realização de seus projetos.

Sendo assim, após a aprovação do CEP, nossa contribuição consistirá no oferecimento de 70 dentes pré-molares inferiores

(número e grupo de dentes)

para a execução do trabalho de pesquisa intitulado Estudo Comparativo entre quatro técnicas de limpeza em endodôntia regenerativa

ser realizado por Leonardo dos Santos Baroudi

(autor(es))

e orientado por Kusai Baroudi

* através de microscopia eletrônica de varredura, análise de extensões de irrigantes e de redução da carga microbiana



Taubaté, 05 de abril de 2021

Profa. Dra. Mônica Cesar do Patrocínio
Coordenadora do Banco de Dentes Humanos
CROSP: 37609 - UNITAU

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, natural de _____, sexo _____, cor _____, residente na _____, cidade de _____, telefone _____, portador do RG _____, aceito doar o(s) dente(s):

_____ para o BANCO DE DENTES HUMANOS DO DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ (PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA), ciente

de que o(s) mesmo(s) será(ão) utilizado(s) para pesquisa desta Universidade intitulada ESTUDO COMPARATIVO ENTRE QUATRO TÉCNICAS DE LIMPEZA EM ENDODONTIA REGENERATIVA ATRAVÉS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA, ANÁLISE DE EXTRUSÃO DE IRRIGANTES E DE REDUÇÃO DA CARGA MICROBIANA, conduzida pelo aluno de Doutorado em Odontologia, Leonardo dos Santos Barroso. Estou consciente de que este(s) dente(s) foi(ram) extraído(s) por indicação terapêutica para a melhoria da minha saúde, como documentado em meu prontuário. Caso este(s) dente(s) seja(m) utilizado(s) em pesquisa, esta deverá ter sido previamente aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté, sendo preservada a minha identidade na divulgação.

Taubaté/SP, _____ de _____ de 20 _____.

ASSINATURA DO DOADOR OU RESPONSÁVEL LEGAL

ASSINATURA DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL

Nome e assinatura da testemunha e RG



UNITAU - UNIVERSIDADE DE
TAUBATÉ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE QUATRO TÉCNICAS DE LIMPEZA EM ENDODONTIA REGENERATIVA ATRAVÉS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA, ANÁLISE DE EXTRUSÃO DE IRRIGANTES E DE REDUÇÃO DA CARGA MICROBIANA

Pesquisador: Leonardo dos Santos Barroso

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 45245820.7.1001.5501

Instituição Proponente: Universidade de Taubaté Departamento de Odontologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.645.085

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo laboratorial com dentes humanos para a avaliação de diferentes técnicas de tratamento endodôntico

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral do presente estudo é comparar a eficácia, no que tange a grau de limpeza, extrusão apical de irrigante e redução microbiana, de quatro métodos de desinfecção para serem usados em procedimentos de endodontia regenerativa: Imagem convencional, XP Endo Finisher® (FKG Dentaire), Escova para conduto® (MK Life) e Aplix® (Angelus).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Riscos mínimos ao pesquisador, especialmente quando da manipulação das amostras microbiológicas. Protocolos de segurança serão rigorosamente seguidos.

Benefícios:

Aumentar a compreensão sobre os processos de limpeza de canais radiculares amplos e possibilitar a introdução de uma técnica que seja viável, de

Endereço: Rua Visconde do Rio Branco, 210

Bairro: Centro

CEP: 12.020-040

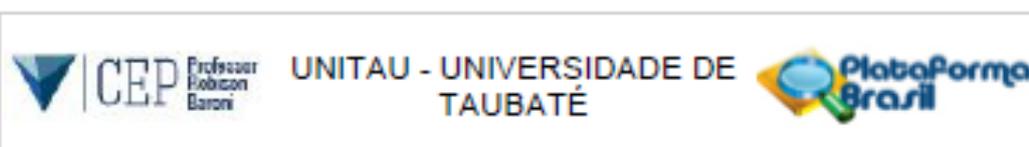
UF: SP

Município: TAUBATÉ

Telefone: (12)3835-1233

Fax: (12)3835-1233

E-mail: cep@unitau.br



Continuação do Parecer: 4.645.085

baixo custo, baixa curva de aprendizagem e eficiente na execução de procedimentos de endodontia regenerativa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

PEsquisa com metodologia bem clara e objetiva que permitirá estabelecer as respostas procurados na pesquisa

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

EM ordem

Recomendações:

Sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté, em reunião realizada no dia 09/04/2021, e no uso das competências definidas na Resolução CNS/MS 466/12, considerou o Projeto de Pesquisa: APROVADO.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1655335.pdf	05/04/2021 16:18:16		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_pesquisa_leonardo.pdf	05/04/2021 16:17:51	Leonardo dos Santos Barroso	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	banco_de_dentes_unitau.pdf	05/04/2021 16:15:32	Leonardo dos Santos Barroso	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_compromisso_pesquisador.pdf	29/03/2021 16:04:21	Leonardo dos Santos Barroso	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_dispenza_TCLE.pdf	29/03/2021 15:41:49	Leonardo dos Santos Barroso	Aceito
Declaração de Instituição e	carta_anuencia_unifoa.pdf	29/03/2021 15:41:23	Leonardo dos Santos Barroso	Aceito

Endereço: Rua Visconde do Rio Branco, 210
 Bairro: Centro CEP: 12.020-040
 UF: SP Município: TAUBATÉ
 Telefone: (12)3635-1233 Fax: (12)3635-1233 E-mail: cep@unitau.br



UNITAU - UNIVERSIDADE DE
TAUBATÉ



Continuação do Parecer: 4.648.005

Infraestrutura	carta_anuencia_unifoa.pdf	29/03/2021 15:41:23	Leonardo dos Santos Barroso	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_projeto.pdf	28/10/2020 17:04:55	Leonardo dos Santos Barroso	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

TAUBATE, 12 de Abril de 2021

Assinado por:
Wendry Maria Paixão Pereira
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Visconde do Rio Branco, 210
Bairro: Centro CEP: 12.020-040
UF: SP Município: TAUBATE
Telefone: (12)3635-1233 Fax: (12)3635-1235 E-mail: cep@unitau.br

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

Nome do autor

Taubaté, mês e ano de impressão.