

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

ALESSANDRA ROSSI COELHO

**Efeito antibacteriano proporcionado pelo sistema Endox associado
a diferentes protocolos de irrigação no preparo de canais
radiculares infectados**

Goiânia
2015

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Nome completo do autor: Alessandra Rossi Coelho

Título do trabalho: **Efeito antibacteriano proporcionado pelo sistema Endox associado a diferentes protocolos de irrigação no preparo de canais radiculares infectados**

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

Alessandra Rossi Coelho

Assinatura do (a) autor (a)

Data: 03 / 11 / 2016

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

ALESSANDRA ROSSI COELHO

**Efeito antibacteriano proporcionado pelo sistema Endox associado
a diferentes protocolos de irrigação no preparo de canais
radiculares infectados**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Clínica Odontológica.

Linha de Pesquisa: Desempenho de materiais odontológicos

Orientador: Prof. Dr. João Batista de Souza

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Estrela

GOIÂNIA

2015

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Coelho, Alessandra Rossi

Efeito antibacteriano proporcionado pelo sistema Endox associado a diferentes protocolos de irrigação no preparo de canais radiculares infectados [manuscrito] / Alessandra Rossi Coelho. - 2015.
79 f.

Orientador: Prof. Dr. João Batista de Souza; co-orientador Dr. Carlos Estrela.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Odontologia (FO) , Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Goiânia, 2015.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, abreviaturas, símbolos, tabelas, lista de tabelas.

1. Irrigantes. 2. Irrigação. 3. Hipoclorito de sódio. 4. Endox endodontic system. 5. Enterococcus faecalis. I. Souza, João Batista de, orient. II. Estrela, Carlos, co-orient. III. Título.



**Ministério da Educação
Universidade Federal de Goiás
Faculdade de Odontologia
Programa de Pós-Graduação em Odontologia**

Ata de Defesa de Dissertação número 144

Aos **doze dias do mês de março de 2015**, às 14:00 horas, reuniu-se na sala 62 da Faculdade de Odontologia, a Comissão Julgadora infranomeada para proceder ao julgamento da Defesa de Dissertação de **Alessandra Rossi Coelho** intitulada "Efeito antibacteriano proporcionado pelo sistema Endox associado a diferentes protocolos de irrigação no preparo de canais radiculares infectados", como parte de requisitos necessários à obtenção do título de **Mestre**, área de concentração **Clinica Odontológica**. Inicialmente, Prof. Dr. João Batista de Souza apresentou a Comissão Examinadora da qual é presidente, e concedeu a palavra a candidata, para exposição de sua dissertação em trinta minutos. A seguir, o senhor presidente concedeu a palavra aos examinadores, os quais passaram a arguir a candidata conforme os termos regimentais. Finalizada a arguição, a Comissão expressou seu Julgamento conforme abaixo:

Comissão Examinadora

Prof. Dr. João Batista de Souza- Presidente
Prof. Dr. Daniel de Almeida Decúrcio- Membro
Prof. Dr. Orlando Aguirre Guedes – Membro
Prof. Dr. Carlos Estrela- Membro

Aprovado(a)/Reprovado(a)

Aprovada
Aprovada
Aprovada
Aprovada

Em face do resultado obtido, a Comissão Examinadora considerou a candidata Alessandra Rossi Coelho

Aprovada – A candidata deverá fazer as modificações eventualmente sugeridas e apresentar a versão definitiva à Coordenadoria do Programa em no máximo trinta (30) dias após a defesa (artigo 57 da Resolução CEPEC 1136/2013 que regulamenta este Programa).

Reprovada – A candidata () poderá () não poderá submeter-se a outra defesa em um prazo de dias (mínimo 30, máximo 90 dias) (artigo 55, parágrafo 2º, Resolução CEPEC 1136/2013).

Alteração de título da dissertação? () Não () Sim, para _____

Outras observações da Comissão Examinadora (se necessário): _____

Nada mais havendo a tratar eu, Gláucia Terra e Silva, secretária do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, lavrei a presente ata que segue assinada pelos membros da Comissão Examinadora, pelo candidato e por mim.

Comissão Examinadora

Assinatura

Prof. Dr. João Batista de Souza– Presidente
Prof. Dr. Daniel de Almeida Decúrcio – Membro
Prof. Dr. Orlando Aguirre Guedes – Membro
Prof. Dr. Carlos Estrela- Membro

João Batista de Souza
Daniel de Almeida Decúrcio
Orlando Aguirre Guedes
Carlos Estrela

Candidata

Alessandra Rossi Coelho

Alessandra Rossi Coelho

Secretária

Gláucia Terra e Silva

Gláucia Terra e Silva

Ata homologada em reunião da Coordenadoria de Pós-Graduação em 06/04/2015

Assinatura da Coordenadora do Programa:

Luciane R. R. S. Costa

Profª Dra Luciane R. R. S. Costa
Coordenadora do Programa
de Pós-Graduação da FO UFG

DEDICATÓRIA

*Ao meu esposo André que fez este
Mestrado junto comigo ora me ajudando
em vários trabalhos, ora me substituindo
nas atividades domésticas, sociais e me
dando todo apoio emocional.*

*Ao meu filho João Pedro que nunca
reclamou da minha ausência ou falta de tempo,
mas ao contrário, sempre com um sorriso no rosto
perguntava se eu estava bem.*

*Este trabalho é de vocês também amores da
minha vida, presentes sagrados de Deus no
meu caminhar.*

AGRADECIMENTOS

À Deus

Obrigada Senhor meu Deus pela minha vida, por ser uma filha amada, por estar sempre debaixo do vosso amparo e por desfrutar da Vossa criação.

Obrigada pela minha família, por meus amigos e meu trabalho.

Obrigada meu Deus por permitir que eu chegasse até aqui, por todas oportunidades. Como sou grata por tudo, pois o percebo em todos os momentos! Sei que cuidastes de todos os detalhes e tudo saiu perfeito conforme a Vossa vontade.

Obrigada pelos dons que me destes e também pelas imperfeições e fraquezas, pois somos humanos e só vós é o Senhor! Sei que passei por provações, mas também sei que foram importantes para meu crescimento, não para me tornar maior que os outros, mas para ser mais humilde e fraterna.

Agradeço Senhor pela minha conversão diária, por enxergar de uma maneira diferente o sentido da vida e das pessoas, mesmo que isso às vezes me faça sofrer.

Glória e louvores Vos dou a todo momento!

À Maria

Obrigada Maria pelo seu exemplo de mulher e doçura.

Agradeço a Nossa Senhora minha mãe por me amparar em seu colo como uma mãe cuidadosa, por passar na frente e abrir caminhos, por me defender de todos os perigos e maldades.

Obrigada Maria por me ajudar a reconhecer o plano de Deus em minha vida e por me ajudar quando fiquei desanimada.

Obrigada por segurar em minha mão e me conduzir até Jesus.

À família

Agradeço aos meus pais Divina e Rossi por tudo! Pela minha criação, educação, ajuda, amor, carinho, preocupações e zelo. Sou fruto do que me ensinaram a ser, tenho o que me ensinaram a conseguir. Amo muito vocês!

Aos meus irmãos Rafael e Fabiana, e peço licença aos meus pais em dizer que os tenho como filhos, e agora vocês sabem o quanto amamos os filhos! Obrigada pela ajuda nesse momento de ausência!

Aos meus cunhados Liliana, Víctor, Murilo, Tatiana, vocês são meus irmãos com toda força que possa representar esta palavra e estendo aos concunhados Robson e Race.

Aos meus sobrinhos Lucas, Gustavo, Paulo, Vítor e Luna. Vocês são anjos de Deus! Titia e madrinha ama demais!

Aos meus sogros, Eulina e Ildeu pelo apoio, carinho e ajuda!

Obrigada filho por ser esse menino lindo, por se preocupar com a mamãe, por ser sempre um motivo de alegria. Você é o meu melhor projeto! Espero que Deus me abençoe e me dê sabedoria para continuar conduzindo a sua vida e que eu possa lhe retribuir o quanto você me faz bem. Mamãe ama demais! Você é meu tesouro e te faço um convite para aproveitarmos todos os dias de sol e chuva enquanto nos for possível.

Como agradecer ao meu amor André por tanta dedicação? Obrigada por seu amor incondicional, pelo carinho, amizade. Obrigada por cuidar do João Pedro. Obrigada por me ensinar tanto. Obrigada por às vezes esquecer de você e só pensar em mim. Somos uma só alma, um só coração. O que é meu é seu e o que é seu é meu. Não sabemos mais quem é dono de quem e de que. Somos um só. Compartilhamos gostos, vontades, desejos, tristezas, aflições, alegrias. Somos confidentes. Não temos segredos. Construimos uma relação forte apoiada em Deus e posso dizer que sou feliz por isso. Obrigada por cuidar de mim!

Ao grupo de casais Encontrar “Nossa Senhora de Fátima” por todas orações.

Ao Padre Rafael de La Torre pela orientação espiritual.

Aos amigos

Agradeço a você Mônica Endo, minha amiga e minha irmã de coração, por ter me ajudado tanto a fazer este Mestrado. Conhecemos bem uma a outra, sabemos trabalhar em parceria e acredito que nos completamos. Somos uma “dupla dinâmica”.

Minha querida sentirei sua falta, não me abandone!

Trouxe um trecho de São Francisco de Sales sobre a amizade entre São Francisco e Santa Clara de Assis que traduz de certa forma o que sinto por você Mônica:

“É bom poder amar na terra como se ama no céu, e aprendermos a amar neste mundo como havemos de fazer eternamente no outro. Aqui não me refiro ao simples amor da caridade, porque temos que ter este amor por todos os homens; refiro-me à amizade espiritual, no âmbito da qual duas, três ou mais pessoas permutam entre si a devoção e os afetos espirituais, tornando-se realmente um só espírito.”

À todos os meus amigos que torcem por mim, que se compadecem com minhas derrotas e se alegram com minhas vitórias. Graças a Deus tenho muitos!

À todos meus colegas da Pós-Graduação (Mestrado e Doutorado). Em especial Ricardo Neves e Rodrigo Rocha por terem demonstrado solidariedade e despreendimento.

À minha amiga e colega Prof^a Cristiane Bonanato Estrela, meu anjo da guarda.

À minha coordenadora de curso da Faculdade de Odontologia da Universidade Paulista e amiga Prof^a Tessa de Lucena Botelho, pelo incentivo, apoio e compreensão. Estendo meus agradecimentos à todos professores da Odonto UNIP.

Ao Centro de Especialidade Odontológicas do Estado de Goiás na pessoa da diretora Sônia Chicarolli, estendendo a todos colegas, funcionários e pacientes.

Ao meu orientador

Obrigada Professor João Batista de Souza pela oportunidade, pelo aprendizado e convivência. Tenho certeza que levarei comigo muito mais que conteúdo, seu nome em meu currículo e um olhar mais afiado, mas principalmente, uma sincera amizade.

Tenho especial carinho e grande admiração por sua pessoa.

Ao meu co-orientador

Professor Carlos Estrela, o Senhor me fez acreditar na possibilidade de fazer o Mestrado aqui na UFG. Desde então, persegui este sonho que a muito estava adormecido e aqui estou a lhe agradecer pela oportunidade. Obrigada por abrir as portas da sua sala, com direito a cópia da chave! Gostaria que o Senhor soubesse que foi uma grande honra fazer parte da sua equipe nestes dois anos, não por vaidade, mas por poder compartilhar um pouco da vida de um grande nome da Odontologia. Foi de grande aprendizado!

Aos Professores

À professora Ana Helena Gonçalves Alencar por ter semeado em meu coração o gosto pela vida acadêmica, o desejo pelo Mestrado e por ter influenciado positivamente em minha vida profissional. Serei eternamente grata!

Aos professores Daniel Decúrcio, Júlio Almeida, Iussif Mamede pela oportunidade de convivência, aprendizado e amizade.

À Professora Maristela G Borba por ter me ajudado no meu projeto de pesquisa inicial.

À todos Professores do Programa de Pós-graduação em Odontologia.

À equipe de pesquisa

À Profª Cyntia Rodrigues de Araújo Estrela pela oportunidade, pelas concessões, ensinamento e por conduzir com simpatia toda fase experimental.

À Profª Denise Ramos Silveira Alves por disponibilizar do seu tempo e conhecimento.

À Mônica Misaé Endo e Juliano Miguel que me acompanharam durante a fase experimental.

Aos funcionários e alunos

À todos funcionários e alunos da Faculdade de Odontologia da UFG.
À Claudinha da Urgência, Gracinha do Núcleo Livre, Gláucia secretária da PPGO, Sinara e Josiel do Serviço Social e aos alunos que acompanhei durante o Estágio Docente.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás na pessoa da
Diretora Profª Dra. Enilza Maria Mendonça de Paiva.

Ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia na pessoa da
Coordenadora Profª Dra. Luciane Ribeiro de Rezende Sucasas da Costa.

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pela concessão de
bolsa de estudo.

És grande, Senhor e infinitamente digno de ser louvado; grande é teu poder, e incomensurável tua sabedoria. E o homem, pequena parte de tua criação quer louvar-te, e precisamente o homem que, revestido de sua mortalidade, traz em si o testemunho do pecado e a prova de que resistes aos soberbos. Todavia, o homem, partícula de tua criação, deseja louvar-te. Tu mesmo que incitas ao deleite no teu louvor, porque nos fizeste para ti, e nosso coração está inquieto enquanto não encontrar em ti descanso.”

Confissões(1,1,1-4) Santo Agostinho

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito antibacteriano proporcionado pelo sistema Endox associado a diferentes protocolos de irrigação durante o preparo de canais radiculares (PCR) infectados. **Material e método:** Foram selecionados 18 dentes humanos anteriores extraídos com diâmetros anatômicos correspondentes a aproximadamente 350-400 micrômetros. Os dentes foram contaminados com suspensão de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) por 60 dias, e aleatoriamente distribuídos em cinco grupos experimentais: Grupo 1. PCR + irrigação ultrassônica passiva (IUP) com NaOCl 2,5% + EDTA; Grupo 2. PCR + IUP com NaOCl 2,5% + EDTA + sistema Endox; Grupo 3. PCR + irrigação convencional (IC) com NaOCl 2,5% + EDTA Grupo 4. PCR + IC com NaOCl 2,5% + EDTA + sistema Endox; Grupo 5. PCR + IUP com água destilada + EDTA + sistema Endox. Três dentes não contaminados constituíram o grupo controle negativo (Grupo 6). Amostras foram coletadas dos canais radiculares antes do PCR, após 20 minutos e 72 horas, imersas em 7 mL de *Brain Heart Infusion* (BHI) por um período de 48 horas, incubadas a 37°C. A presença bacteriana foi analisado pela turvação do meio de cultura seguido pela mensuração da densidade óptica utilizando espectrofotômetro UV. As diferenças entre os grupos foram analisadas estatisticamente pela média, desvio padrão, análise de variância e teste de Tukey (*post hoc*). O nível de significância foi de 5%. **Resultados:** A presença de *E. faecalis* foi observada, após 72 h, em todos os grupos experimentais. Nos Grupos 2 e 4 houve redução da densidade óptica do meio de cultura após 72 h, não havendo diferença significativa entre ambos, enquanto que nos Grupos 1, 3 e 5 houve aumento. A média da densidade óptica do meio de cultura no Grupo 6 foi zero. **Conclusão:** O sistema Endox, utilizado após o preparo do canal radicular, associado a irrigação convencional ou irrigação ultrassônica passiva, com NaOCl a 2,5%/ EDTA, não foi efetivo na eliminação do *E. faecalis*.

Palavras-chave: Irrigantes, irrigação, hipoclorito de sódio, *Endox Endodontic System*, *Enterococcus faecalis*.

ABSTRACT

Objectives: To determine the antibacterial effect provided by Endox system associated with different irrigation protocols in the preparation of infected root canals.

Material and methods: A total of 18 extracted human teeth with anatomical diameters corresponding to approximately 350-400 micrometers were selected. The teeth were contaminated with suspension of *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) for 60 days and randomly divided into five groups: 1. root canal preparation (RCP) + passive ultrasonic irrigation (PUI) with NaOCl + EDTA; 2. RCP + PUI with NaOCl + EDTA + Endox system; 3. RCP + conventional irrigation (CI) with NaOCl + EDTA 4. RCP + CI with NaOCl + EDTA + Endox system; 5. RCP + PUI with distilled water + EDTA + Endox system. Three teeth uncontaminated were the negative control (group 6). Samples were taken from the root canals before the RCP after 20 minutes and 72 hours, immersed in 7 ml of Brain Heart Infusion (BHI) for a period of 48 hours, incubated at 37 °C. The presence of bacterial was assessed by turbidity of the culture medium followed by optical density analysis using UV spectrophotometer. The differences between groups were statistically analyzed by mean, standard deviation, variance analysis and Tukey test (post hoc). The significance level was 5%.

Results: The presence of *E. faecalis* was observed after 72 h in all experimental groups. In Groups 2 and 4 decreased the optical density of the culture medium after 72 h, with no significant difference between them, while in Groups 1, 3 and 5 was increased. The average optical density of the culture medium was zero in Group 6.

Conclusion: The Endox system used after the root canal preparation, associated with conventional irrigation or passive ultrasonic irrigation with NaOCl 2,5% / EDTA, was not effective in eliminating *E. faecalis*.

Keywords: Irrigating solutions, irrigation, sodium hypochlorite, Endox Endodontic System, *Enterococcus faecalis*.

LISTA DE QUADROS e TABELAS

Quadro1- Distribuição dos grupos experimentais.....	31
Tabela 1- Média \pm desvio padrão (DP) da densidade óptica do meio de cultura, e presença ou ausência de bactéria.....	36

LISTA DE SIMBOLOS ABREVIATURAS E SIGLAS

AD	Água destilada
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
BHIA-	<i>Brain heart infusion agar</i>
BR	BioRace
CAAF	Corrente alternada de alta frequência
CHX	Clorexidina
EDTA	Ácido etilenodiaminitetracético
DP	Desvio padrão
°C	Grau Celcius
ga	Gauge
GO	Goiás
h	Horas
IUP	Irrigação ultrassônica passiva
KHz	Kilo Hertz
Lt	Lote
<	Menor
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
mL	Mililitro
mm	Milímetro
min	Minutos
MTAD	Associação de doxiciclina, ácido cítrico e detergente Tween 80.
-	Negativo
NaOCL	Hipoclorito de sódio
n.	Número
#	Número
+	Positivo
%	Porcentagem
PCR	Preparo do Canal Radicular
p	Valor de probabilidade
SP	São Paulo
UFCs	Unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	23
2	OBJETIVOS.....	27
2.1	OBJETIVO GERAL.....	27
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4	RESULTADOS.....	35
5	DISCUSSÃO.....	37
6	CONCLUSÃO.....	41
7	REFERÊNCIAS.....	43
	APÊNDICE A	49
	APÊNDICE B	53
	ANEXO A	71
	ANEXO B.....	74

1 INTRODUÇÃO

Os micro-organismos representam os principais agentes etiológicos das alterações dos tecidos pulpare e periapicais. As infecções endodônticas apresentam natureza polimicrobiana, sendo que nas primárias ocorre predominância de bactérias anaeróbias Gram-negativas e nas secundárias, o predomínio de Gram-positivas. O *E. faecalis* é um *coccus* anaeróbio facultativo Gram-positivo, que tem sido isolado de canais radiculares obturados com patologia periapical crônica, e representa uma bactéria importante, uma vez que possui capacidade de sobreviver em condições complexas (MOLANDER *et al.*, 1998; SUNDQVIST *et al.*, 1998; NAIR *et al.*, 1990, 2005; LOVE, 2001; SIQUEIRA, 2001; SIQUEIRA e RÔÇAS, 2004; ZEHNDER e GUGGENHEIM, 2009).

Estabelecida a infecção no sistema de canais radiculares, as estratégias terapêuticas, incluindo o processo de sanificação, são determinantes para a redução do número de micro-organismos em nível compatível com a saúde. A eliminação da contaminação bacteriana representa um desafio, principalmente em função de particularidades da anatomia interna dos canais radiculares (ESTRELA *et al.*, 2012a; PÉCORA *et al.*, 2013). A presença de istmos e ramificações favorece a estruturação de biofilme bacteriano em áreas inacessíveis aos instrumentos e irrigantes endodônticos (SUNDQVIST *et al.*, 1998; WU *et al.*, 2000, 2002; NAIR *et al.*, 2005; PÉCORA *et al.*, 2005; PAQUÉ *et al.*, 2009; FREIRE, 2010; ESTRELA *et al.*, 2014).

O processo de sanificação, a partir da ação mecânica dos instrumentos endodônticos e química dos irrigantes, assume grande importância no controle bacteriano e na inativação de endotoxinas. A irrigação é parte fundamental deste processo, pois espera-se ação em áreas onde a instrumentação não alcançou (ESTRELA *et al.*, 2012a; BASRANI e HAAPASALO, 2012; HULSMANN, 2013).

Uma variedade de soluções irrigantes tem sido proposta, porém nenhuma detém todas as características desejadas e com isso várias combinações de produtos e protocolos têm sido testadas (HAAPASALO *et al.*, 2010). O hipoclorito de sódio (NaOCl) tem sido a solução irrigadora mais frequentemente utilizada no preparo do canal radicular (PCR), apresentando excelente atividade antimicrobiana e capacidade de dissolução tecidual (ESTRELA *et al.*, 2002), enquanto o EDTA (ácido

etilenodiaminotetracético), é o agente quelante mais comumente empregado na remoção de estruturas inorgânicas da *smear layer* (BASRANI e HAAPASALO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2013). A capacidade do NaOCl de inativar bactérias é essencial, no entanto, sua eficácia depende do contato direto com o processo infeccioso. Assim, fatores como volume utilizado, tempo de ação, concentração e protocolo de irrigação (ESTRELA *et al.*, 2003; ZEHNDER, 2006; BASRANI e HAAPASALO *et al.*, 2012) influenciam diretamente em sua efetividade (GIARDINO *et al.*, 2014).

Vários sistemas têm sido desenvolvidos com a finalidade de otimizar os efeitos das soluções irrigadoras. A irrigação ultrassônica passiva (IUP) representa uma alternativa que tem apresentado resultados promissores em comparação com a irrigação convencional (IC) (GU *et al.*, 2009). O NaOCl associado à IUP tem revelado maior eficiência na remoção da *smear layer* (GOODMAN *et al.* 1985; VAN DER SLUIS *et al.*, 2007b; PARAGLIOLA *et al.*, 2010; RÖDIG *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2013), na remoção de micro-organismos (HUQUE *et al.*, 1998) e determinado uma melhor qualidade de obturação do canal radicular (VAN DER SLUIS *et al.*, 2007a).

O sistema Endox foi proposto com o objetivo de simplificar o protocolo de trabalho e ainda, elevar o padrão da Endodontia, por permitir inicialmente a localização do forame apical, por impedância, e posteriormente, a vaporização do tecido pulpar. Tem sido relatado ser capaz de promover remoção da *smear layer* e redução do conteúdo bacteriano do sistema de canais radiculares, por meio do aumento da temperatura, decorrente da aplicação de corrente alternada de alta frequência, de aproximadamente 312,5 KHz (HAFFNER *et al.*, 1997; SACCHI, 2000).

Quanto a remoção da *smear layer*, Haffner *et al.* (1997, 1999) realizaram os primeiros estudos com o sistema Endox, utilizando como solução irrigadora a solução fisiológica, sem realizar PCR, e observaram ausência de debris e *smear layer* nas paredes do canal radicular, após análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Em 2002, Al-Shaheri e Al-Nazhan verificaram que o sistema Endox era efetivo na remoção da *smear layer* sem causar danos a estrutura dentinária. Os efeitos do sistema Endox na polpa e após a instrumentação endodôntica foi investigado por Lendini *et al.* (2005), utilizando a solução fisiológica

como solução irrigadora, e resultados semelhantes a quando foi realizado PCR com NaOCl e EDTA foram obtidos com relação a remoção de debris e *smear layer*.

Para avaliação do efeito antibacteriano, Haffner *et al.* (1997) observaram redução bacteriana significativa pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs) em células planctônicas, utilizando soro fisiológico como solução irrigadora sem PCR. Por outro lado, Virtej *et al.* (2007) empregaram o sistema Endox, também sem realização de PCR, em dentes com infecções endodônticas primárias que mostrou menor efeito antibacteriano em comparação ao NaOCl a 3% em análise microbiológica por UFCs. Mammani *et al.* (2010) coletaram amostras microbiológicas de 250 dentes infectados, após realizar o PCR com solução fisiológica e após utilização do sistema Endox. Os resultados mostraram que o sistema Endox promoveu a eliminação do *E. faecalis* em 55,6% das amostras iniciais nas quais tinha sido isolado (18 amostras). Porém em 2012, após PCR com solução fisiológica e utilização do sistema Endox, Aranda-Garcia *et al.* verificaram efeito antibacteriano reduzido sobre o *E. faecalis*, quando comparado ao PCR com o NaOCl a 2,5%/EDTA. Contudo, em nenhum dos estudos analisados o sistema Endox foi associado ao NaOCl.

A contínua presença de culturas microbianas positivas após o PCR (ESTRELA *et al.*, 2007; DORNELLES-MORGENTAL *et al.*, 2011; VERA *et al.* 2012, WONG e CHEUNG, 2014; GIARDINO *et al.* 2014) has motivated the search procedures and protocols that promote an improved sanitizing process, and which can lead to obtaining negative microbial cultures (HOCKETT *et al.*, 2008). Por haver resultados contraditórios sobre a eficácia do sistema Endox, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito antibacteriano do sistema Endox associado a diferentes protocolos de irrigação no preparo de canais radiculares infectados, por meio de análise microbiológica e espectrofotometria.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o efeito antibacteriano proporcionado pelo sistema Endox associado a diferentes protocolos de irrigação no preparo de canais radiculares infectados.

2.2 Específicos

- Avaliar o efeito antibacteriano proporcionado pelo sistema Endox associado a irrigação ultrassônica passiva e a irrigação convencional, em canais radiculares infectados com *Enterococcus faecalis*, por meio de análise microbiológica e espectrofotometria, após 20 minutos e 72 horas;
- Avaliar o efeito antibacteriano proporcionado pelo sistema Endox utilizando como soluções irrigadoras o NaOCl a 2,5%/EDTA 17%, e a água destilada/EDTA.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Goiás (CAAE n. 26119074.2.0000.5083 - Anexo A).

3.1 Micro-organismo teste

No estudo foi utilizada metodologia similar a desenvolvida previamente por Estrela *et al.* (2007). Uma cepa de anaeróbio facultativo (cocos Gram-positivos *E. faecalis*; ATCC 29212) procedente da *American Type Culture Collection*, constituiu no indicador biológico. A cepa bacteriana foi inoculada em 7 mL de *Brain Heart Infusion* (BHI; Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA) e incubada a 37°C por 24 horas. A suspensão experimental foi preparada pela cultivo da cepa em superfície de ágar (BHIA- brain heart infusion agar; Difco Laboratories), em condições de incubação similar a descrita. Decorridas 24 horas, as células bacterianas foram suspensas em solução salina, no intuito de alcançar uma concentração de aproximadamente 3×10^8 células mL⁻¹ (padrão turbidez 1 de McFarland). A concentração microbiana foi mensurada utilizando a análise por densidade ótica em espectrofotômetro UV (Spectrophotometer Model Nova 1600 UV, Piracicaba, SP, Brasil) ajustado em comprimento de onda de $\lambda=600$ nm (nanômetros), que corresponde à absorbância de 0,137 nm.

3.2 Preparo dos dentes

Foram utilizados dentes humanos unirradiculares extraídos (caninos e incisivos superiores), cedidos por pacientes maiores de dezoito anos tratados nas clínicas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás (FO-UFG), e com indicação de exodontia por motivo periodontal ou protético. Os dentes extraídos foram estocados em solução de timol 0,2% e posteriormente imersos em hipoclorito de sódio (NaOCl) a 5%, (Fitofarma, Goiânia, GO, Brasil) por 30 minutos para remoção de tecidos orgânicos. Foram realizadas radiografias periapicais (Eastman Kodak Comp., EUA) dos dentes nos sentidos vestibulo-lingual e proximal para confirmar presença de canal radicular único e ausência de variações anatômicas. Foram excluídos os dentes com rizogênese incompleta, obliteração do canal radicular, dilaceração da raiz, reabsorções radiculares e tratamento endodôntico.

Foram selecionados 18 dentes com diâmetro anatômico de aproximadamente 350 - 400 micrômetros, ou seja, diâmetro que corresponde a lima tipo K-file n. 35/40. As coroas foram removidas, sob contínuo jato de ar/água, com broca laminada Endo-Z (Maillefer, Ballaigues, Suíça) em alta rotação, num ângulo de 90° com o longo eixo do dente. Os comprimentos radiculares foram padronizados em 16 mm, e os canais radiculares esvaziados até o zero apical com instrumento K-Flex #15 (Maillefer, Ballaigues, Suíça), sendo posteriormente recuado 1mm para ajuste do comprimento de trabalho. A amostra foi preparada com o sistema BioRace (FKG Dentaire, Swiss Dental Products, La Chaux-de-Fonds, Suíça) utilizando o instrumento BR5 #40/0,04 acionado com motor elétrico X-Smart (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) ajustado em 600 rpm e torque 2N (DEBELIAN; SYDNEY, 2009) e irrigação convencional com 3 mL de NaOCl 2,5% (Fitofarma) recém-preparada. A seguir, os canais radiculares foram secados e preenchidos com EDTA 17% (pH 7.2 – Biodinâmica, Ibiporá, PR, Brasil) por 3 minutos para remoção da *smear layer*, e depois autoclavados por 30 minutos a 120°C .

3.3 Desenho experimental

No modelo experimental, uma plataforma dividida foi usada durante o período de inoculação com o marcador biológico. A porção coronária da raiz de cada amostra foi conectada ao fundo cortado de um microtubo do tipo Eppendorf de polipropileno de 1,5 mL (Cral, SP, Brasil), ficando os terços médio e apical para fora do microtubo, e a conexão foi selada usando adesivo cianoacrilato (Super Bonder, Itapevi, SP, Brasil) para prevenir infiltração. As raízes acopladas aos microtubos de polipropileno foram esterilizadas em NaOCl 5% (Fitofarma) por 30 minutos, lavados em água esterilizada por 30 minutos. A conexão dente-tubo foi adaptada a tampa VT furada para vidro âmbar VW de 10 mL (Pilfer, Atibaia, SP, Brasil) previamente esterilizados. A conexão tubo-tampa foi inteiramente coberta com duas camadas de esmalte de unha (Risqué, Niasi Cosméticos, SP, Brasil) e a seguir foi rosqueada ao vidro âmbar, contendo meio de cultura (BHI) no seu interior. Desta forma, o terço apical da raiz ficou imersa em meio de cultura. Para assegurar a esterilização, o aparato teste foi incubado a 37°C por 24 horas. Decorrido o período, nenhum crescimento bacteriano foi observado. Cinco mililitros do BHI esterilizado foram misturados a 5 mL do inóculo bacteriano, e os grupos experimentais foram

inoculados com *E. faecalis* por 60 dias, usando seringas esterilizadas com volume suficiente para preencher o canal radicular. Este procedimento foi repetido a cada 72 horas, sempre utilizando cultura pura com 24 horas de preparo e ajustada ao padrão 1 de McFarland. As raízes foram mantidos em meio úmido a 37°C. Três espécimes não contaminados foram incubados a 37°C (Controle negativo), durante o período de contaminação, para testar a esterilidade das amostras.

Após o período de contaminação (60 dias) foi realizada coleta inicial em todos espécimes. Os canais radiculares foram preenchidos com água destilada e secados com pontas de papel esterilizadas (Tanari, Tanariman Indústria Ltda., Manacaru, AM, Brasil) tamanho n. 40, introduzidas dentro do canal radicular, e mantidas por 1 minuto. Cada amostra foi coletada utilizando três pontas de papel absorvente esterilizadas. As pontas foram individualmente transportadas e imersas em 7 mL de BHI (Difco laboratories), um meio adicionado com neutralizantes [Tween 80 e tiosulfato de sódio (P.A., Laboratório Art, Campinas, SP, Brasil)] em concentrações apropriadas, seguida pela incubação a 37°C por 48 horas. A coleta inicial foi realizada com o objetivo de confirmar a presença ou ausência bacteriana pela turvação do meio de cultura, e mensurar a densidade óptica.

Os espécimes foram aleatoriamente distribuídos em 5 grupos experimentais (n=3) e 1 grupo controle (n= 3) (Quadro 1).

Quadro1. Distribuição dos grupos experimentais

Grupos	Protocolos	Amostras n
1	PCR + IUP com NaOCl + EDTA	3
2	PCR + IUP com NaOCl + EDTA + sistema Endox	3
3	PCR + IC com NaOCl + EDTA	3
4	PCR + IC com NaOCl + EDTA + sistema Endox	3
5	PCR + IUP com água destilada + EDTA + sistema Endox	3
Controle negativo	Canais radiculares não contaminados – sem PCR	3
Total		18

PCR: Preparo do canal radicular; NaOCl: Hipoclorito de sódio a 2,5%; EDTA: Ácido Etilenodiaminotetracético 17%; IUP: Irrigação ultrassônica passiva; IC: Irrigação convencional.

Os canais radiculares foram preparados com a extensão do sistema BioRaCe (FKG Dentaire, Swiss Dental Products, La Chaux-de-Fonds, Suíça) na sequência BR6#50.02 e BR7#60.02 (DEBELIAN; SYDNEY, 2009), a cada troca de instrumento foi realizada irrigação com 3 mL da solução irrigante.

A irrigação ultrassônica passiva foi realizada utilizando-se o aparelho de ultrassom Piezon Master 200 (EMS Electro Medical Systems AS, Suíça) com protocolo de 3 ciclos de 3mL de soluções teste, potência 20%. A ponta ultrassônica E1 Irrisonic (Helse Dental thechnology, Santa rosa de Viterbo, SP, Brasil) foi posicionada 1mm aquém do comprimento de trabalho e ativada por 30 segundos, realizando-se movimentos curtos de vaivém, com cuidado de não tocar as paredes do canal radicular.

O processo de irrigação convencional foi realizado durante todo o preparo do canal radicular com seringa Ultradent 5mL e cânula de irrigação Endo-Eze *Irrigator Tip* (Ultradent Products Inc - South Jordan, UT-EUA) 27ga com diâmetro de 0,40 mm, posicionada em 14 mm, com manobras de penetração e remoção gradativa.

Para aplicação do sistema Endox foi desenvolvida uma plataforma em que a raiz dentária foi colocada no interior de um microtubo do tipo Eppendorf de polipropileno pequeno (Cral), esterilizado e preenchido com água destilada, adaptando-se a abertura do microtubo 3 mm aquém do limite cervical da raiz. A conexão raiz-Eppendorf foi presa a uma morsa. Um clip labial foi preso ao eletrodo neutro por uma fita crepe e colocado apoiado nos 3 mm expostos da superfície extrarradicular da raiz para fechar o circuito. Posterior a remoção do excesso de umidade da superfície extrarradicular cervical, o aparelho foi ligado e a função desvitalização para caninos foi selecionada. Utilizou-se o protocolo de acordo com o fabricante, e o acionamento de um pulso do sistema Endox em cada terço foi realizado com a sonda preta (30 mm – 0,20 diâmetro), cursor posicionado nas marcas de 3 mm, 8 mm, 13 mm.

Posterior ao processo de sanificação, todos os espécimes receberam irrigação final com água destilada esterilizada, e coleta 20 minutos após o PCR foi realizada utilizando três pontas de papel absorvente esterilizadas de calibre n. 60

(Tanari). As pontas foram individualmente transportadas e imersas em 7mL de BHI contendo neutralizantes, seguida pela incubação a 37°C por 48 horas. Os dentes foram estocados em microtubos do tipo Eppendorf de polipropileno de 1,5mL (Cral) e incubados a 37°C. Decorridas 72 horas, foi realizada nova coleta de maneira similar à descrita anteriormente, e posteriormente incubados a 37°C por 48 horas. Todas as coletas foram realizadas em triplicata sob condições assépticas.

A presença de bactérias foi analisada pela turvação do meio de cultura procedentes das coletas inicial, de 20 minutos e 72 horas. A análise foi realizada após incubação de 24 e 48 horas posteriores as coletas. Após a avaliação das alterações do meio de cultura, um inóculo de 0,1 mL obtido do meio foi transferido para 7mL de Letheen (Difco laboratories), subseqüentemente incubado a 37°C por 48 horas. O repique para o Letheen foi realizado imediatamente após a análise de 48 horas de cada coleta (inicial, 20 minutos e 72 horas). Nova análise da presença bacteriana pela turvação do meio de cultura foi feita nos períodos de 24 e 48 horas subseqüentes ao repique, sendo que nesta último período de análise (48 horas) foi realizada também mensuração da densidade ótica por meio do espectrofotômetro UV.

A média e o desvio padrão da densidade ótica da cultura microbiana resultante da coleta microbiológica inicial, 20 minutos e de 72 horas foram obtidos. A diferença entre os grupos foi avaliada pelo teste ANOVA e *post hoc* Tukey. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$. A análise estatística foi realizada utilizando o software *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 20 (SPSS, Chicago, IL).

3 RESULTADOS

O efeito antibacteriano proporcionado pelo sistema Endox associado aos diferentes protocolos de irrigação no preparo de canais radiculares infectados por *E. faecalis* está demonstrado na Tabela 1 e Apêndice B.

Os resultados mostraram que, após 20 minutos, houve redução na média da densidade óptica do meio de cultura nos Grupos 1, 2, 3 e 4, sendo esta significativa para o Grupo 2, enquanto que no Grupo 5 houve aumento, porém não significativo.

A presença de *E. faecalis* foi observada, após 72 h, em todos os grupos experimentais. Nos Grupos 2 e 4 houve redução na média da densidade óptica do meio de cultura, após 72 h, não havendo diferença significativa entre ambos, enquanto que nos Grupos 1, 3 e 5 houve aumento.

No grupo controle negativo (Grupo 6) a média da densidade óptica do meio de cultura foi zero na coleta inicial, após 20 minutos e 72 horas.

Tabela 1- Média \pm desvio padrão (DP) da densidade óptica do meio de cultura, e presença ou ausência de bactéria

Grupos	Média/DP da densidade óptica do meio (nm) Inicial ($p=0.000$) ¹	Presença/ ausência de bactérias	Média/DP da densidade óptica do meio (nm) ($p=0.000$) ¹ Após 20 min	Presença/ ausência de bactérias	Média/DP da densidade óptica do meio (nm) ($p=0.000$) ¹ Após 72 h
1.PCR+ IUP com NaOCl+EDTA	0,305 \pm 0,095($p=0,952$) ^{A,a}	+ - -	0,104 \pm 0,149 ($p=1,000$) ^{A,a}	+ ++	0,324 \pm 0,005 ($p=0,542$) ^{A,b}
2.PCR+ IUP com NaOCl+EDTA+ sistema Endox	0,855 \pm 0,462 $p=0,052$) ^{A,b}	- - +	0,079 \pm 0,126 ($p=1,000$) ^{B,a}	- + +	0,199 \pm 0,173($p=0,944$) ^{AB,a}
3.PCR+ IC com NaOCl+EDTA	0,210 \pm 0,133($p=0,996$) ^{A,a}	- - -	0,067 \pm 0,113 ($p=1,000$) ^{A,a}	+++	0,215 \pm 0,037 ($p=0,914$) ^{A,a}
4.PCR+ IC com NaOCl+EDTA+ sistema Endox	0,843 \pm 0,428($p=0,057$) ^{A,b}	- + +	0,244 \pm 0,215 ($p=1,000$) ^{AB,a}	+ - +	0,133 \pm 0,108 ($p=0,996$) ^{B,a}
5.PCR+ IUP com água destilada +EDTA+ sistema Endox	0,267 \pm 0,023($p=0,979$) ^{A,a}	+ + +	0,293 \pm 0,087 ($p=1,000$) ^{A,a}	+ ++	0,284 \pm 0,016 ($p=0,699$) ^{A,b}
6.Controle negativo	0 ^a	- - -	0 ^a	- - -	0 ^a

(+++ , A presença de bactérias; - - -, ausência de bactérias). A média da densidade óptica do meio de controlo negativo foi 0,000¹. Análise estatística: one-way ANOVA e teste de Tukey. Valores seguidos de pelo menos uma mesma letra na mesma coluna não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$). Valores com letras diferentes na mesma coluna apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa nas colunas. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa nas linhas.

4 DISCUSSÃO

Estabelecida a infecção no sistema de canais radiculares os procedimentos incluídos nas estratégias de sanificação são essenciais para obter-se o sucesso endodôntico. Porém, alcançar a completa eliminação bacteriana é extremamente difícil, principalmente pela complexidade da anatomia interna (ESTRELA *et al.*, 2012a; PÉCORA *et al.*, 2013).

Várias soluções irrigadoras com diferentes concentrações e associações, entre elas o hipoclorito de sódio a 1,0%, 2,5%, 5-6%, clorexidina, EDTA (ZEHNDER, 2006; ESTRELA *et al.*, 2008; HAAPASALO *et al.*, 2010; ALVES *et al.* 2011; BASRANI e HAAPASALO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2013; GIARDINO *et al.* 2014) associadas a diferentes protocolos de irrigação, irrigação convencional e irrigação ultrassônica passiva (GOODMAN *et al.*, 1985; VAN DER SLUIS *et al.*, 2007a e b; BHUVA *et al.* 2010; ALVES *et al.*, 2011), EndoVac - irrigação por pressão negativa (GREGÓRIO *et al.* 2010), EndoActivator - irrigação sônica (PARAGLIOLA *et al.*, 2010), sistema Endox (HAFFNER *et al.*, 1997) têm sido empregadas na busca de alternativas para eliminação bacteriana do canal radicular (ESTRELA *et al.*, 2007; VERA *et al.*, 2012).

Os resultados do presente estudo mostraram que tanto a IUP quanto a IC com NaOCl a 2,5%/EDTA durante o PCR associado ao sistema Endox, reduziram o número de *E. faecalis* após 72 horas. Estudos utilizando o sistema Endox associado a estes dois protocolos de irrigação não foram encontrados na literatura revista. Bhuva *et al.* (2010) compararam a eficácia da IUP com a IC utilizando NaOCl a 1%, durante o PCR, e não encontraram diferença significativa entre os dois grupos, na remoção do biofilme, em dentes contaminados com *E. faecalis*, em análise por meio de MEV. Resultados discordantes dos de Alves *et al.* (2011), que observaram maior redução bacteriana após utilização da IUP em canais radiculares contaminados com *E. faecalis*.

A discrepância entre os resultados pode ser justificada pelo tempo de formação do biofilme. No presente estudo, o biofilme foi formado em 60 dias, em

contraste com os trabalhos que utilizaram biofilme de 72 horas (BHUVA *et al.* 2010), 21 dias (ARANDA-GARCIA *et al.*, 2012) e 30 dias (ALVES *et al.*, 2011). Bactérias organizadas em biofilme exibem várias características que garantem vantagens sobre bactérias planctônicas, proporcionando maior resistência ao PCR. Além disso, são capazes de realizar troca de material genético e alterações fenotípicas entre os micro-organismos envolvidos com conseqüente aumento na resistência aos agentes antimicrobianos (BHUVA *et al.*, 2010; DORNELLES-MORGENTAL, 2011). Acredita-se que 60 dias seja tempo suficiente para que o *E. faecalis* seja capaz de invadir túbulos dentinários e mostrar resistência (ESTRELA *et al.*, 2007, 2009b).

Vale ressaltar que no presente estudo, pode ser verificada, após 72 horas, uma redução na média da densidade óptica do meio de cultura quando o NaOCl a 2,5%/EDTA foi utilizado durante o PCR associado ao sistema Endox. Em contraste, quando a água destilada/EDTA foi empregada como solução irrigadora, a densidade óptica aumentou. Em discordância com os resultados do presente estudo, Aranda-Garcia *et al.* (2012) verificaram redução bacteriana tanto quando realizaram o PCR com solução fisiológica associada ao sistema Endox como quando realizaram PCR com NaOCl a 2,5%/EDTA sem aplicar o sistema Endox, em dentes humanos extraídos e contaminados com *E. faecalis*.

Em estudo sem PCR, resultados superiores foram observados por Virtej *et al.* (2007) quando o crescimento bacteriano foi avaliado em dentes contaminados por uma semana. O emprego do NaOCl a 3% revelou ausência de crescimento bacteriano em 100%, enquanto que, quando o sistema Endox foi utilizado a ausência de crescimento foi de 79,55%. Karale *et al.* (2011), também em investigação sem PCR, verificaram que o NaOCl a 3%, mantido no canal por 5 minutos sob agitação manual, reduziu em 100% a contaminação bacteriana, enquanto o sistema Endox reduziu 70%, em contagem de UFCs, em suspensão de *E. faecalis* incubados por 24 horas.

O hipoclorito de sódio tem sido bastante estudado e indicado (ESTRELA, C. *et al.* 2002, 2003, 2007, 2012a; ZEHNDER, 2006; HAAPASALO *et al.* 2010; BASRANI & HAAPASALO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2013; HULSMANN, 2013). Sua excelente atividade antimicrobiana é expressa a partir do elevado pH (ação dos íons

hidroxila) e dissolução tecidual que envolve reações químicas de saponificação, neutralização de aminoácidos e de cloraminação. Arias-Moliz *et al.* (2009) verificaram em biofilme de *E. faecalis* de 24 horas que o NaOCl a 0,000625% é capaz de eliminar a concentração bacteriana em 1 minuto. Porém, quando foi utilizado biofilme de 60 dias em estudo realizado por Estrela *et al.* (2007) o NaOCl a 2,5% circulante durante 20 minutos por meio de um dispositivo, não foi capaz de eliminar o *E. faecalis*. Em revisão sistemática realizada para verificar a eficácia do NaOCl e CHX na eliminação do *E. faecalis* observou-se que o NaOCl reduz a microbiota endodôntica, mas não elimina completamente (ESTRELA *et al.*, 2008), semelhante aos resultados do presente estudo.

Tem sido relatado (LENDINI *et al.* 2005) que o sistema Endox apresenta as seguintes características responsáveis pelo efeito antibacteriano: aumento de temperatura local (300 - 500°C), produção de raios ultra-violetas (aumento de ozônio), que agem sinergicamente promovendo a eliminação do conteúdo do canal radicular pela vaporização de estruturas orgânicas e inorgânicas. Porém, não está sedimentado o exato mecanismo responsável pelos efeitos descritos.

Pode ser observado, no presente estudo, que embora o emprego do sistema Endox associado ao PCR realizado com diferentes protocolos e soluções irrigadoras, tenha reduzido a densidade óptica do meio de cultura, não mostrou efetividade na completa eliminação do *E. faecalis*. Resultado semelhante ao observado por Aranda-Garcia *et al.* (2012) que verificaram redução, mas não total eliminação de *E. faecalis* quando da realização do PCR com solução fisiológica, com utilização ou não do sistema Endox, e ao observado por Mammani *et al.* (2010), que verificaram redução de 55,6% de *E. faecalis* após aplicação do sistema Endox, mas não observaram cultura negativa.

A avaliação da turbidez de cultura microbiana é um método amplamente utilizado (BEATRICE *et al.*, 2008), além de ser prático, embora indireto, de estimar a concentração celular. No presente estudo em complementação a avaliação da turbidez foi utilizado o emprego da análise da densidade óptica (espectrofotometria) a qual corresponde a capacidade de absorvância relacionada a quantidade de luz

que atravessa o meio de cultura, sendo a densidade óptica proporcional ao número de bactérias presentes (ESTRELA *et al.*, 2012b), porém não fornece valores absolutos da concentração de células. Ainda, é susceptível a alterações das condições ambientais, da insuficiência de diluição, e da dificuldade na detecção de contaminação externa, por isso, a necessidade do controle negativo (TYRONE; NICHOLAS, 2000).

A utilização de dentes unirradiculares suscita a necessidade de novos estudos frente aos desafios proporcionados pela complexidade da anatomia interna e as infecções neste sistema.

Sob as condições testadas e dentro das limitações do estudo, o sistema Endox não demonstrou efetividade na eliminação total do *E. faecalis*. A invasão dos micro-organismos no interior dos túbulos dentinários reforça a importância de utilização de medicação intracanal entre sessões, a qual justifica-se pelo fato de que, apesar do PCR associado a diferentes protocolos de irrigação e novas tecnologias possibilitar redução significativa no número de micro-organismos, não os elimina completamente do sistema de canais radiculares (LAW; MESSER, 2004; ESTRELA *et al.*, 2009a; ESTRELA *et al.*, 2012a).

5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o sistema Endox, utilizado após o preparo do canal radicular, associado a irrigação convencional ou irrigação ultrassônica passiva, com NaOCl / EDTA, não foi efetivo na eliminação do *E. faecalis*.

REFERÊNCIAS*

- 1-AL-SHAHERI, F.; AL-NAZHAN, S. SEM study of the effect of heat on dentin structure of root canal system treated by Endox and ND: YAP Laser. **Saudi. Dent. J.**, v.14, n.2, p. 73-6, 2002.
- 2-ALVES, F.R.F. *et al.* Disinfecting oval-shaped root canals: effectiveness of different supplementary approaches. **J. Endod.**, v.37, n.4, p.496-501, 2011.
- 3-ARANDA-GARCIA, A. R. *et al.* Antibacterial effectiveness of several irrigating solutions and the Endox Plus System – an ex vivo study. **Int. Endod. J.**, v.45, n.12, p.1091-6, 2012.
- 4-ARIAS-MOLIZ, M.T. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. **J. Endod.**, v.35, n.5, p.711-714, 2009.
- 5-BASRANI, B.; HAAPASALO, M. Update on endodontic irrigating solutions. **Endod. Topics**, v.27, p.74-102, 2012.
- 6-BEATRICE, L.C.S., *et al.* PCR e o perfil microbiológico das infecções endodônticas: realidade ou utopia? **Odont. Clín. Científ.**, v.7, n.4, p.295-298, 2008.
- 7-BHUVA, B. *et al.* The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms in extracted single-rooted human teeth. **Int. Endod. J.**, v.43, p.241-250, 2010.
- 8-DEBELIAN, G.; SYDNEY, G. B. Sistema BioRace: segurança e eficiência. **Rev Odontol Bras Central**, v.18, n.45, p.62-7, 2009.
- 9-DORNELLES-MORGENTAL, R.; *et al.* Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.112, p.396-400, 2011.
- 10-ESTRELA, C. *et al.* Mechanism of Action of sodium hypochlorite. **Braz. Dent. J.**, v.13, n.2, p.113-117, 2002.
- 11-ESTRELA, C. *et al.* Control of microorganisms in vitro by endodontic irrigants. **Braz. Dent. J.**, n.14, v.3, p.187-92, 2003.

* Referências formatadas segundo (ABNT NBR 6024:2012). Abreviaturas de periódicos segundo Medline

- 12-ESTRELA, C. *et al.* Antimicrobiol efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. **Int. Endod. J.**, v.40, p. 85-93, 2007.
- 13-ESTRELA, C. *et al.* Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*-A systematic review. **J. Appl. Oral Sci.**, v.16, n.6, p.364-368, 2008.
- 14-ESTRELA, C. *et al.* Antibacterial efficacy of intracanal medicaments on bacterial biofilm: a critical review. **J. Appl. Oral Sci.**, v.17, n.1, p.1-7, 2009(a).
- 15-ESTRELA, C. *et al.* A model system to study antimicrobial strategies in endodontic biofilms. **J. Appl. Oral Sci.**, v.17, n.2, p.87-91, Mar-Apr., 2009 (b).
- 16-ESTRELA, C. *et al.* Influência de estratégias de sanificação no sucesso do tratamento da periodontite apical. **Odontol. Bras. Central**, v.21, n.56, p.367-375, 2012(a).
- 17-ESTRELA, C. *et al.* A preliminary study of the antibacterial potencial of cetylpyridinium chloride in root canals infected by *E. faecalis*. **Braz. Dent. J.**, v.23, n.6, p.645-653, 2012(b).
- 18-ESTRELA, C. *et al.* Characterization of successful root canal treatment. **Braz. Dent. J.**, v.25, n.1, p.3-11, 2014.
- 19-FREIRE, J.G. **Avaliação do preparo de canais radiculares com instrumentos rotatórios torcidos e usinados, por meio de cortes transversais e da microtomografia computadorizada.** 2010. Dissertação, Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 2010.
- 20-GREGORIO, C. *et al.* Efficacy of different irrigation and activation systems on the penetration of sodium hypochlorite into simulated lateral canals and up to working length: Na in vitro study. **J. Endod.**,v.36, n.7, p. 1216-1221, 2010.
- 21-GIARDINO, L. *et al.* Antibacterial power of sodium hypochlorite combined with surfactants and acetic acid. **Braz. Dent. J.**, v.25, n.4, p.289-294, 2014.
- 22-GOODMAN, A. *et al.* An in vitro comparison of the efficacy of the Step-Back Technique versus a Step-Back/Ultrasonic Technique in human mandibular molars. **J. Endod.**, v.11, n.6, p.249-56, 1985.
- 23-GU, L. *et al.* Review of contemporary irrigante agitation techniques and devices. **J. Endod.**, v.35, n.6, p. 791-804, 2009.

- 24-HAFFNER, C. *et al.* Das Endox – Endodontiesystem. **ZWR**, v.106, n.12, p. 764-767, 1997.
- 25-HAFFNER, C.; BENZ C. Das HR Endox- Endodontie-system: Weitere Laborergebnisse und erste Klinische Resultate. **ZWR.**, v.108, p.670-4, 1999.
- 26-HAAPASALO *et al.* .Irrigation in endodontics. **Dent. Clin. North Am.**, n.54, 2, p.291-312, 2010.
- 27-HOCKETT, J.L. *et al.* Antimicrobial efficacy of two irrigation techniques in tapered and nontapered canal preparations: an in vitro study. **J. Endod.**, v.34, n.11, p.1374-1377, 2008.
- 28-HÜLSMANN, M. Effects of mechanical instrumentation and chemical irrigation on the root canal dentin and surrounding tissues. **Endod. Topics**, v.29, p.55-86, 2013.
- 29-HUQUE, J. *et al.* Bacterial eradication from root dentine by ultrasonic irrigation with sodium hypochlorite. **Int. Endod. J.**, n.31 p.242-250, 1998.
- 30-KARALE, R *et al.* An evaluation of antibacterial efficacy of 3% sodium hypochlorite, highfrequency alternating current and 2% chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. **J. Conserv. Dent.**, v.14, n.1, p. 2–5, 2011.
- 31-LAW A.; MESSER H. An evidence-based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. **J. Endod.**, v.30, p.689-94, 2004.
- 32-LENDINI, M. *et al.* The effect of highfrequency electrical pulses on organic tissue in root canals. **Int. Endod. J.**, v.38, p.531-8, 2005.
- 33-LOVE, R.M. *Enterococcus faecalis* – a mechanism for its role in endodontic failure. **Int. Endod. J.**, v.34, p.399-405, 2001.
- 34-MAMMANI, I. M. A *et al.* Efficacy of Endox Endodontic System in eradication of *Enterococcus faecalis* from infected pulp. **Rawal Medical J.**, v.35, n.1, p. 48-50, 2010.
- 35-MOLANDER, A. *et al.* Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **Int. Endod. J.**, v.31, p.1-7, 1998.
- 36-NAIR, P. N. *et al.* Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: A long-term light and electron microscopic follow-up study. **J. Endod.**, v.16, n.12, p.580-588, 1990.

- 37-NAIR, P.N. *et al.* Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after “one-visit” endodontic treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.99, p.231-52, 2005.
- 38-PAQUÉ, F. *et al.* Hard-Tissue Debris Accumulation Analysis by High-Resolution Computed Tomography Scans. **J. Endod.**, v.35, n.7, p.1044-47, 2009.
- 39-PARAGLIOLA, R. *et al.* Final rinse optimization: influence of different agitation protocols. **J. Endod.**, v.36, n.2 p.282-285, 2010.
- 40-PÉCORA, J. D. *et al.* Influence of cervical preflaring on apical file size determination. **Int. Endod. J.**,v.38, p.430-435, 2005.
- 41-PÉCORA, J. D. *et al.* Detection of root canal isthmus in molars by map-reading dynamic using CBCT images. **Brazilian Dent. J.**, v.24, n.6, p.569-574, 2013.
- 42-RÖDIG, T. *et al.* Efficacy of syringe irrigation, RinsEndo and passive ultrasonic irrigation in removing debris from irregularities in root canals with different apical sizes. **Int. Endod. J.**, v.43, p.581-589, 2010.
- 43-SACCHI, V. Description of the system. In: Symposium on Endodontics, Malaga, Dec. 2000.
- 44-SILVA, J. A. *et al.* A critical analysis of the sanitization strategies on root canal cleaning. **Stomatos.**, v.19, n.37, p.48-59, 2013.
- 45-SIQUEIRA, J. F. Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. **Int. Endod. J.**, v.34, p.1-10, 2001.
- 46-SIQUEIRA, J. F.Jr.; RÔÇAS, N. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.97, p.85-94, Jan. 2004
- 47-SUNDQVIST, G. *et al.* Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.85, p.86–93, 1998.
- 48-TYRONE, L.P.; NICHOLAS, A.S. Molecular bacteriology: a diagnostic tool for the millennium. **J. Clin. Pathol.**, v.53, p.71-75, 2000.
- 49-VAN DER SLUIS, L. W. M. *et al.* An evaluation of influence of passive ultrasonic irrigation on the seal of root canal fillings. **Inter. Endod. J.**, v.40, p.356-361, 2007 (a).
- 50-VAN DER SLUIS, L. W. M. *et al.* Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. **Inter. Endod. J.**, v.40, p.415-426, 2007 (b).

- 51-VERA, J. *et al.* One- versus Two-visit Endodontic Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Histobacteriologic Study. **J. Endod.**, v.38, n.8, p.1040-1052, 2012.
- 52-VIRTEJ, A. *et al.* Determination of the performance of various root canal disinfection methods after in situ carriage. **J. Endod.**, v.33, n.8, p.926-929, Ago. 2007.
- 53-WONG, D. T. S.; CHEUNG, G. S .P. A. Extension of Bactericidal Effect of Sodium Hypochlorite into Dentinal Tubules. **J. Endod.**, v.40, n.6, pp.825-829, 2014.
- 54-WU, M. K. *et al.* Prevalence and extend of long oval canals in the apical third. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.89, p.739-43, 2000.
- 55-WU, M. K. *et al.* Does the first file to bind correspond to the diameter of the canal in the apical region? **Inter. Endod. J.**, v.35, p.264-267, 2002.
- 56-ZEHNDER, M. Root canal irrigants. **J. Endod.**, v.32, n.5, p.389-98, 2006.
- 57-ZEHNDER, M.; GUGGENHEIM, B. The mysterious appearance of enterococci in filled root canals. **Int. Endod. J.**, v.42, p.277-287, 2009.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Senhor(a) está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, de uma pesquisa. Meu nome é Alessandra Rossi Coelho, sou pesquisadora responsável e minha área de atuação é Endodontia. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma. Em caso de dúvida sobre os seus direitos como participante nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa Universidade Federal de Goiás pelo telefone 3521-1075 ou 3521-1076.

Título do Projeto: **Avaliação de um aparelho chamado Endox no tratamento do canal radicular.**

Pesquisador Responsável: Alessandra Rossi Coelho

Telefones para contato (inclusive ligações a cobrar): (62) 8111-8283

O senhor(a) participará dessa pesquisa através da doação do dente que será extraído de acordo com o tratamento que foi indicado para melhorar a saúde de sua boca. Uma grande dificuldade do tratamento de canal (tratamento endodôntico) é conseguir uma completa limpeza e eliminação das bactérias de dentro do dente. O dente pode apresentar ao invés de um, mas vários canais bem pequenos e que dependendo da infecção, é muito difícil de limpar. O dente cedido será utilizado para avaliar o efeito de um aparelho chamado Endox que promete ajudar a acabar com a infecção.

A cirurgia para extração do dente será realizada na Clínica de Cirurgia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás, seu dente será guardado e em nenhum momento você será identificado durante a pesquisa (será mantido o sigilo da sua identidade), mesmo quando os resultados da pesquisa forem divulgados. Após a cirurgia você receberá as orientações, por escrito, sobre o

repouso e o que fazer para uma boa recuperação, bem como os remédios que deve tomar. Se houver dor, inchaço ou qualquer desconforto decorrente da cirurgia, o senhor(a) poderá entrar em contato por telefone (inclusive à cobrar) com o pesquisador responsável. O dente que o Senhor(a) irá doar será extraído por não ser mais possível mantê-lo na boca, e não para a realização da pesquisa. Os procedimentos desta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade e saúde.

O senhor(a) será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer momento que desejar. O senhor(a) é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios.

A sua participação no estudo não acarretará custos para o senhor(a), uma vez que seu tratamento será realizado para resolver seus problemas dentários já existentes. Não haverá nenhuma recompensação financeira. Seu dente será adequadamente guardado até o final desta pesquisa e, posteriormente, caso o(a) senhor(a) autorize, será doado para o treinamento e aprendizagem de alunos da Faculdade de Odontologia. Quando necessário, o descarte será realizado em local destinado para o lixo biológico da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás.

O senhor (a) não terá nenhum benefício direto ao participar desta pesquisa, no entanto, os resultados serão publicados com o objetivo de melhorar a qualidade do tratamento de canal (Tratamento endodôntico) oferecido à toda a população. Após a extração do seu dente, seu tratamento será continuado nas clínicas de reabilitação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás ou o(a) senhor (a) será encaminhado para os serviços de atenção básica do serviço público de saúde. Qualquer tipo de dano sofrido pelo(a) senhor(a) em função da participação nesta pesquisa será devidamente ressarcido por indenização com valor proporcional ao dano sofrido estipulado por uma autoridade competente.

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO OU DO RESPONSÁVEL PELO PARTICIPANTE

Eu, _____,

RG: _____ CPF: _____ nºprontuário: _____

fui informado (a) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei pedir novas informações e mudar minha decisão em participar da pesquisa. Os pesquisadores certificaram-me que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais. Também sei que não haverá custos. Em caso de dúvidas poderei chamar a pesquisadora **Alessandra Rossi Coelho** no telefone (62)8111-8283. Declaro que concordo em participar do estudo sobre **Avaliação de um aparelho chamado Endox no tratamento do canal radicular**. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Local e data:

Assinatura do sujeito ou responsável:

Assinatura do pesquisador responsável:

APÊNDICE B

ANTIBACTERIAL EFFECT PROVIDED BY ENDOX SYSTEM ASSOCIATED WITH DIFFERENT IRRIGATION PROTOCOLS IN THE PREPARATION OF INFECTED ROOT CANALS

Alessandra Rossi Coelho, Mônica Misaé Endo, Denise Ramos de Silveira Alves, Ana Helena Gonçalves de Alencar, Cyntia Rodrigues de Araújo Estrela, Carlos Estrela, João Batista de Souza.

Correspondence Address:

e-mail: alessandra.endo@uol.com.br

Abstract

Objectives: To determine the antibacterial effect provided by Endox system associated with different irrigation protocols in the preparation of infected root canals.

Material and methods: A total of 18 extracted human teeth with anatomical diameters corresponding to approximately 350-400 micrometers were selected. The teeth were contaminated with suspension of *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) for 60 days and randomly divided into five groups: 1. root canal preparation (RCP) + passive ultrasonic irrigation (PUI) with NaOCl + EDTA; 2. RCP + PUI with NaOCl + EDTA + Endox system; 3. RCP + conventional irrigation (CI) with NaOCl + EDTA 4. RCP + CI with NaOCl + EDTA + Endox system; 5. RCP + PUI with distilled water + EDTA + Endox system. Three teeth uncontaminated were the negative control (group 6). Samples were taken from the root canals before the RCP after 20 minutes and 72 hours, immersed in 7 ml of Brain Heart Infusion (BHI) for a period of 48 hours, incubated at 37 °C. The presence of bacterial was assessed by turbidity of the culture medium followed by optical density analysis using UV spectrophotometer. The differences between groups were statistically analyzed by mean, standard deviation, variance analysis and Tukey test (post hoc). The significance level was 5%.

Results: The presence of *E. faecalis* was observed after 72 h in all experimental groups. In Groups 2 and 4 decreased the optical density of the culture medium after 72 h, with no significant difference between them, while in Groups 1, 3 and 5 was

increased. The average optical density of the culture medium was zero in Group 6.

Conclusion: The Endox system used after the root canal preparation, associated with conventional irrigation or passive ultrasonic irrigation with NaOCl 2,5% / EDTA, was not effective in eliminating *E. faecalis*.

Keywords: Irrigating solutions, irrigation, sodium hypochlorite, Endox Endodontic System, *Enterococcus faecalis*.

1.Introduction

Microorganisms are the main etiological agents of changes in pulp and periapical tissues. The endodontic infections have polymicrobial nature, and occurs predominantly in the primary anaerobic Gram-negative bacteria and the secondary is a predominance of Gram-positive bacteria. *E. faecalis* is a facultative anaerobic gram-positive cocci, which has been isolated from root canals filled with periapical disease and is an important bacteria, since it has the ability to survive in conditions complex. [1,2,3,4,5,6,7]

Established infection in the root canal system, therapeutic strategies, including the process of sanitation, are crucial in reducing the number of microorganisms at a level compatible with health. The elimination of bacterial contamination is a challenge, mainly due to peculiarities of the internal anatomy of root canals.^[8,9] The presence of isthmus and favors the structure of bacterial biofilms in areas inaccessible to endodontic instruments and irrigation.^[2,10,11,12,13,14,15,16]

The process of sanitizing, from the mechanical action of endodontic instruments and chemistry of irrigators, assumes importance in the bacterial control and inactivation of endotoxin. Irrigation is a key part of this process, because it is expected action in areas where the instrumentation not reached.^[8,17,18]

A variety of irrigation solutions have been proposed, but none has all the desired characteristics and thus various combinations of products and protocols have been tested.^[19] Sodium hypochlorite (NaOCl) has been the most commonly used irrigating solution in root canal preparation (RCP), with an excellent antimicrobial activity and tissue dissolution capacity ^[20] , while EDTA (ethylenediaminetetraacetic

acid), is the most commonly used chelating agent in the removing inorganic structures such as *smear layer*.^[17,21] The ability of NaOCl in inactivate bacteria is essential, and its effectiveness depends on direct contact with infection. Thus, factors such as volume used, action time, concentration, irrigation protocol^[17,22,23] directly influence on its effectiveness.^[24]

Several systems have been developed in order to optimize the effects of irrigating solutions. Passive ultrasonic irrigation (PUI) is an alternative that has shown promising results as compared to conventional irrigation (CI).^[25] The NaOCl associated with PUI has revealed higher efficiency in removing the smear layer^[21,26,27,28,29], the removal of micro-organisms^[30] and given a better quality of root canal filling^[31].

The Endox system was developed as an alternative to improve the quality of endodontics and simplify the work's protocol, initially allow the location of the apical foramen, and later, the vaporization of the pulp tissue. It is believed to be able to promote smear layer removal and reduction of bacterial content of the root canal system through the increase in temperature resulting from the application of high frequency alternating current of 312,5KHz^[32,33]

As the removal of the smear layer, Haffner et al.^[32,34], conducted the first studies with Endox system using as irrigating saline solution without performing RCP and observed absence of debris and smear layer in the root canal walls, analyzed by Scanning Electron Microscopy (SEM). In 2002, Al-Shaheri and Al-Nazhan^[35] found that Endox system was effective in removing the smear layer without damaging the dentin structure. The effects of Endox system in the pulp and after the root canal preparation was investigated by Lendini et al.^[36], using as saline irrigating solution, and similar results when RCP was performed with NaOCl and EDTA were obtained with respect to the removal of debris and smear layer.

To evaluate the antibacterial effect, Haffner et al. (1997)^[32] observed significant bacterial reduction by counting colony forming units (CFUs) in planktonic cells, using saline as irrigating solution without PCR. Moreover, Virtej et al. (2007)

used the system Endox, also without RCP in teeth with primary endodontic infections showed low antibacterial effect than 3% NaOCl for microbiological examination of CFUs. Mammani et al.^[38] collected microbiological samples of 250 infected teeth, after performing RCP with saline and after use of the Endox system. The results showed that the system Endox promoted elimination of *E. faecalis* in 55.6% of the initial samples which had been isolated (18 samples). But in 2012, after RCP with saline and use of Endox system, Aranda-Garcia et al.^[39] found low antibacterial effect on *E. faecalis* compared to the RCP with 2.5% NaOCl / EDTA.

The continued presence of positive microbial cultures after RCP^[24,40,41,42,43] has motivated the search procedures and protocols that promote bacterial reduction, and which can lead to obtaining a negative culture^[44]. Because there are conflicting results on the effectiveness of Endox system, the objective of this study was to evaluate the antibacterial effect of Endox system associated with different irrigation protocols in the preparation of infected root canals, through microbiological analysis and spectrophotometry.

2. Material and Methods

This study was approved by Ethics in Research Committee of Goiás Federal University (CAAE No 26119074.2.0000.5083. - Annex A).

2.1 Microorganism test

In the study it was used a similar methodology previously developed by Estrela *et al.* (2007). A facultative anaerobe strain (Gram-positive cocci *E. faecalis*; ATCC 29212) coming from the American Type Culture Collection, which was the biological indicator. The bacterial strain was inoculated into 7 mL of Brain Heart Infusion (BHI; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) and incubated for 24 hours at 37°C. Experimental suspension was prepared by growing strain on an agar surface (BHIA- Brain Heart Infusion Agar; Difco Laboratories) in a similar incubation conditions as described. After 24 hours, the bacterial cells were suspended in saline in order to achieve a concentration of approximately 3×10^8 mL⁻¹ cells (1 McFarland turbidity standard). The microbial concentration was measured using the analysis by optical density in UV spectrophotometer (Spectrophotometer Model 1600 New

Waterproof, Piracicaba, SP, Brazil) set to a wavelength of $\lambda = 600$ nm (nanometers), which corresponds to the absorbance of 0.137 nm.

2.2 Teeth Preparation

Single-rooted human teeth were used (canines and incisors), assigned by patients older than eighteen years treated in clinics in the School of Dentistry, Federal University of Goiás (UFG-FO), and extraction indication for periodontal or prosthetic reason. The teeth were stored in 0.2% thymol solution and subsequently immersed in sodium hypochlorite (NaOCl) to 5% (Fitofarma, Goiânia, GO, Brazil) for 30 minutes to remove organic tissue. Periapical radiographs (Eastman Kodak Comp., USA) teeth in buccolingual directions and proximal to confirm presence of a single root canal and absence of anatomical variations. Were excluded teeth with incomplete root formation, obliteration of the root canal, root laceration, root resorption and endodontic treatment.

A total of 18 teeth with anatomical diameter of about 350-400 microns, in other words, with diameter corresponding file type n K-file. 35/40 were select. The crowns were removed under continuous jet of air / water with Endo-Z laminated drill (Maillefer, Ballaigues, Switzerland) at high speed at an angle of 90° with the long axis of the tooth. The root lengths were standardized at 16 mm, and the root canals emptied until the apical zero instrument with K-Flex #15 (Maillefer, Ballaigues, Switzerland), subsequently retreated 1 mm to fit the working length. The sample was prepared with BioRace system (FKG Dentaire, La Chaux-de-Fonds, Switzerland) using the instrument BR5 #40/0.04 with electric motor X-Smart (Dentsplay-Maillefer, Ballaigues, Switzerland) set at 600 rpm and torque 2N (Debelian and Sydney, 2009)^[45] and conventional irrigation with 3 mL of 2.5% NaOCl (Fitofarma) freshly prepared. Next, the root canals were dried and filled with 17% EDTA (pH 7.2 - Biodynamics, Iporã, PR Brazil) for 3 minutes to remove the smear layer, and then autoclaved for 30 minutes at 120°C .

2.3 Experimental Design

In the experimental model, a split platform was used during the feeding period with the biomarker. The coronal portion of the root of each sample was connected to the bottom cut of a microtube of Eppendorf polypropylene 1.5 mL (Cral, São Paulo, SP, Brazil), with the middle and apical thirds out of the microtube, and the connection was sealed using adhesive cyanoacrylate (Super Bonder, Itapevi, SP, Brazil) to prevent infiltration. The roots coupled to polypropylene microcentrifuge tubes were sterilized in 5% NaOCl (Fitofarma) for 30 minutes, rinsed in sterile water for 30 minutes. The tooth-tube connection is adapted to cover pierced VT amber glass VW 10 ml (Pilfer, Atibaia, SP, Brazil) previously sterilized. The tube-cap connection was entirely covered with two layers of nail polish (Risqué, Niasi Cosmetics, SP, Brazil) and then was screwed to the amber glass, containing culture medium (BHI) inside. Thus, the apical third of the root was immersed in the culture medium. To ensure the sterilization, the test apparatus was incubated for 24 hours at 37°C. After this period, no bacterial growth was observed. Five milliliters of sterile BHI were mixed with 5 mL of the bacterial inoculum, and the experimental groups were inoculated with *E. faecalis* for 60 days using sterile syringes with a sufficient volume to fill the root canal. This procedure was repeated every 72 hours, always using pure culture with 24 hours of preparation and set the standard 1 McFarland. The roots were kept in humid conditions at 37°C. Three non-infected specimens were incubated at 37 ° C (negative control) during the contamination period for sterility testing of samples.

After the contamination period (60 days) initial collection was performed on all specimens. The canals were filled with distilled water and dried with sterile paper points (Tanari, Tanariman Industry Ltda., Manacaru, AM, Brazil) size n. 40, introduced into the root canal, and maintained for 1 minute. Each sample was collected using three absorbent paper points sterilized. The tips were individually transported and immersed in 7 mL of BHI (Difco Laboratories), a medium added with neutralizing [Tween 80 and sodium thiosulfate (PA Art Laboratory, Campinas, Brazil)] at appropriate concentrations followed by incubation at 37°C for 48 hours. Initial sampling was performed in order to confirm the presence or absence of the turbidity of the bacterial culture medium, and measuring the optical density.

The specimens were randomly divided into 5 experimental groups (n = 3) and 1 control group (n = 3) (Table 1).

Panel 1. Distribution of the experimental groups

Groups	Protocols	Samples
1	RCP + PUI + NaOCl + EDTA	3
2	RCP + PUI + NaOCl + EDTA + Endox system	3
3	RCP + CI + NaOCl + EDTA	3
4	RCP + CI + NaOCl + EDTA + Endox system	3
5	RCP + PUI + distilled water + EDTA + Endox system	3
Negative control	Root canals uncontaminated - no RCP	3
Total		n=18

PCR: Root canal preparation; NaOCl: Sodium Hypochlorite 2.5%; EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid 17%; PUI: passive ultrasonic irrigation; CI: conventional irrigation.

The root canals were prepared with the extension of BioRaCe system (FKG Dentaire, Swiss Dental Products, La Chaux-de-Fonds, Switzerland) following BR6 # 50.02 and BR7 # 60.02 (Debelian; Sydney, 2009)^[45], every file change irrigation was carried out with 3 mL of irrigating solution.

The PUI was performed using the ultrasound device Piezon Master 200 (EMS Electro Medical Systems SA, Switzerland) with protocol 3mL 3 cycles of test solutions, power 20%. The ultrasonic tip E1 Irrisonic (Helse Dental thechnology, Santa Rose of Viterbo, SP, Brazil) was positioned 1mm short of the working length and activated for 30 seconds, performing short shuttle movements, careful not to touch the walls of the root canal.

The CI process was carried out throughout the root canal preparation with syringe Ultradent 5mL and cannula Endo-Eze Irrigator Tip irrigation (Ultradent Products Inc - South Jordan, UT-USA) 27ga with 0.40 mm diameter, positioned in 14 mm with penetration maneuvers and gradual removal.

Endox system for implementing a platform has been developed in which the tooth root was placed inside an Eppendorf microtube of small polypropylene (Cral),

sterilized and filled with distilled water, adapting to the opening of the microtube 3 mm below the cervical root limit. The connection root-Eppendorf was attached to a walrus. A lip clip was attached to the neutral electrode by a masking tape and placed in supported 3 mm of periapical exposed root surface to close the circuit. Subsequent the device was turned on and the root canal function was selected for canines. Were used the protocol according to the manufacturer, and the touch of a pulse Endox system in each third was carried out with the black probe (30 mm - 0.20 diameter), cursor positioned in the marks 3mm, 8mm, 13mm.

After the sanitization process, all specimens received final irrigation with sterile distilled water and collecting 20 minutes after the RCP was used three absorbent paper points sterile gauge n.60. The paper points were individually transported and immersed in 7 ml of BHI containing neutralizing, followed by incubation for 48 hours at 37°C. The teeth were stored in Eppendorf microtubes of the polypropylene 1.5 mL (Cral) and incubated at 37 °C. After 72 h, a second test was conducted in the same manner as described above and incubated for 48 hours at 37°C. All samples were performed in triplicate under aseptic conditions.

The bacterial growth was assessed by turbidity of the culture medium coming from the initial collection of 20 minutes to 72 hours. The analysis was performed after incubation for 24 and 48 hours later collections. After assessing the changes in the culture medium, an inoculum of 0.1 ml of the medium obtained was transferred to 7 mL of Letheen (Difco Laboratories) and subsequently incubated for 48 hours at 37°C. The peal for Letheen was performed immediately after the analysis of 48 hours of each collection (initial, 20 minutes and 72 hours). Further analysis of bacterial growth by turbidity of the culture medium was taken for periods of 24 and 48 hours following the chime, and in this last study period (48 hours) was also carried interpretation of optical density in a spectrophotometer UV.

The mean and standard deviation of optical density of the initial collection, and collects 20 minutes collecting 72 hours were obtained. The difference between groups was evaluated by ANOVA and post hoc Tukey. The significance level was $p < 0.05$. Statistical analysis was performed using the Statistical Package for Social Sciences software, version 20 (SPSS, Chicago, IL).

3. Results

The antibacterial effect provided by Endox system associated with different irrigation protocols in the preparation of root canals infected with *E. faecalis* is shown in Table 1.

The results showed that after 20 minutes there was a reduction in the average optical density of the culture medium in Groups 1, 2, 3 and 4, this being significant for Group 2, whereas in Group 5 was increased, although not significantly.

The presence of *E. faecalis* was observed after 72 h in all experimental groups. In Groups 2 and 4 there was a reduction in the average optical density of the culture medium after 72 h, with no significant difference between them, while in Groups 1, 3 and 5 was increased.

In the negative control group (Group 6), the mean optical density of the culture medium was zero in the initial collection, after 20 minutes and 72 hours.

Table 1 Mean \pm standard deviation (S) of the optical density and the presence or absence of bacteria.

Groups	Collect	Collet 20 min		Coleta 72 hs	
	Initial ($p=0.000$) ¹	Presence or absence of bacteria	Medium / S of the optical density of the medium (nm) ($p=0.000$) ¹	Presence or absence of bacteria	Medium / S of the optical density of the medium (nm) ($p=0.000$) ¹
1.RCP + PUI + NaOCI + EDTA	0,305 \pm 0,095($p=0.952$) ^{A,a}	+ - -	0,104 \pm 0,149 ($p=1.000$) ^{A,a}	+ ++	0,324 \pm 0,005 ($p=0.542$) ^{A,b}
2.RCP + PUI + NaOCL + EDTA + Endox system	0,855 \pm 0,462 ($p=0.052$) ^{A,b}	- - +	0,079 \pm 0,126 ($p=1.000$) ^{B,a}	- + +	0,199 \pm 0,173($p=0.944$) ^{AB,a}
3.RCP + CI + NaOCI + EDTA	0,210 \pm 0,133($p=0.996$) ^{A,a}	- - -	0,067 \pm 0,113 ($p=1.000$) ^{A,a}	+++	0,215 \pm 0,037 ($p=0.914$) ^{A,a}
4. RCP + CI + NaOCI + EDTA + Endox system	0,843 \pm 0,428($p=0.057$) ^{A,b}	- + +	0,244 \pm 0,215 ($p=1.000$) ^{AB,a}	+ - +	0,133 \pm 0,108 ($p=0.996$) ^{B,a}
5. RCP + PUI + distilled water + EDTA + Endox system	0,267 \pm 0,023($p=0.979$) ^{A,a}	+ + +	0,293 \pm 0,087 ($p=1.000$) ^{A,a}	+ ++	0,284 \pm 0,016 ($p=0.699$) ^{A,b}
6.Negative control	0 ^b	- - -	0 ^a	- - -	0 ^a

(+++presence of bacteria, - - -, no bacteria). The mean optical density of the negative control was 0.0001. Statistical analysis: one-way ANOVA and Tukey test. Values followed by at least one letter in the same column showed no significant differences ($p > 0.05$). Values with different letters in the same column showed significant differences ($p < 0.05$). Different capital letters indicate significant differences in the columns. Different lowercase letters indicate significant differences in the lines.

4. Discussion

Established infection in the root canal system procedures included in sanitation strategies are essential to obtain endodontic success. However, to achieve complete bacterial removal is extremely difficult mainly due to the complexity of the internal anatomy^[8,9].

Several irrigating solutions with different concentrations and associations, among them sodium hypochlorite at 1.0%, 2.5%, 5-6%, chlorhexidine, EDTA^[19,22,46,47,17,21,24] associated with different irrigation protocols, conventional irrigation and passive ultrasonic irrigation^[26,27,31,47,48], EndoVac-irrigation negative pressure^[49], sonic EndoActivator-irrigation^[28], Endox system^[32] have been employed in the search for alternatives to bacterial elimination of the root canal^[40,42].

The results of this study showed that both PUI as the CI with 2.5% NaOCl / EDTA, during the RCP associated with Endox system, reduced the number of *E. faecalis* after 72 hours, but were not effective in complete elimination. Studies using the Endox system associated with these two irrigation protocols were not found in the journal literature. Bhuva et al^[48]. compared the efficacy of using IC or IUP with 1% NaOCl for RCP and not found significant difference between groups on biofilm removal in teeth infected with *E. faecalis* analyzed by SEM. Discordant results of Alves et al.^[47], who observed a higher bacterial reduction after use of PUI in root canals contaminated with *E. faecalis*.

The discrepancy between the results can be justified by the biofilm formation time. In this study, the biofilm was formed in 60 days, in contrast to studies using 72-hour biofilm (Bhuva et al., 2010)^[48], 21 days (Aranda-Garcia et al., 2012)^[39] and 30 days (Alves et al., 2011)^[47]. Bacteria organized in biofilms exhibit several features that ensure advantages on planktonic bacteria, providing greater resistance to RCP. Moreover, they are able to perform exchange of genetic material and phenotypic changes between the microorganisms involved with consequent increase in resistance to antimicrobial agents^[41,48]. It is believed than 60 days is sufficient time for *E. faecalis*, is able to invade dentinal tubules and showing resistance^[40,50].

Note that in this study, can be verified, after 72 hours, a reduction in mean optical density of the culture medium when the 2.5% NaOCl / EDTA was used during the RCP associated with Endox system. In contrast, when the distilled water / EDTA was used as irrigating solution, the optical density increased. In disagreement with the results of this study, Aranda-Garcia et al.^[39] found bacterial reduction when both performed RCP with saline solution associated with Endox system as when performed RCP with 2.5% NaOCl / EDTA without applying the Endox system in extracted human teeth and contaminated with *E. faecalis*.

In a study without RCP, superior results were observed for Virtej et al.^[37] where the bacterial growth in teeth infected was assessed for a week. The use of NaOCl 3% showed no bacterial growth by 100%, while when the system was used Endox the absence of growth was 79.55%. Karale et al.^[51] also under investigation without RCP found that 3% NaOCl, maintained in the canal for 5 minutes under hand shaking, reduced 100% of the bacterial contamination, while Endox system was reduced by 70% of *E. faecalis* suspension incubated for 24 hours by forming units colonies analysis .

Sodium hypochlorite has been extensively studied and reported (Estrela, C. et al.^[8,20,23,40]; Zehnder 2006^[22]; Haapasalo et al.^[19]; Basrani and Haapasalo et al.^[17]; Silva et al.^[21]; Hülsmann^[18]). Its excellent antimicrobial activity is expressed from the high pH (action of hydroxyl ions) and tissue dissolution involving chemical reactions saponification, amino acid neutralization and chloramination. Moliz-Arias et al.^[52] found in biofilms of *E. faecalis* 24 hours than 0.000625% NaOCl is able to eliminate the bacterial concentration in 1 minute. However, when it was used biofilm 60 days in a study conducted by Estrela et al.^[40] the current 2.5% NaOCl for 20 minutes by means of a device, has not been able to eliminate *E. faecalis*. In systematic review to determine the efficacy of NaOCl and CHX in the elimination of *E. faecalis* was observed that reduce NaOCl endodontic microorganisms, but does not eliminate completely (Estrela et al.^[46]), similar to results of this study.

It has been reported (Lendini et al.^[36]) the Endox system has the following characteristics responsávis the antibacterial effect: increased local temperature (300 - 500 °C), production of ultra-violet light (increase of ozone), which act synergistically

promoting removing the contents of the root canal by vaporization of organic and inorganic structures. However, it is not settled the exact mechanism responsible for the effects described.

It can be seen in this study, although the use of RCP associated with the system Endox performed with different protocols and irrigating solutions has reduced the optical density of the culture medium showed effectiveness in the elimination of *E. faecalis*. A similar result was observed by Aranda-Garcia et al.^[39] who found a reduction, but not total elimination of *E. faecalis* when performing RCP with saline solution, using or not Endox system, and observed by Mammani et al.^[38], who found a reduction of 55.6% of *E. faecalis* after application of Endox system, but did not observe any negative culture.

The evaluation of turbidity of microbial culture is a widely used method^[53] as well as being practical, although indirectly, to estimate cell concentration. In the present study completion evaluation of turbidez analysis was used employing optical density (spectrophotometry) which corresponds to the absorbance capacity related to the amount of light passing through the culture medium, optical density is proportional to the number of bacteria present^[54], but does not provide absolute values of cell concentration^[55]. Being Moreover, it is susceptible to changes in environmental conditions, dilution of failure and the difficulty in detection of contamination from outside, so the need for negative control^[55].

The use of single-rooted teeth raises the need for further studies and the challenges provided by the complexity of the internal anatomy and infections in this system.

Under the conditions tested and within the limitations of the study, Endox system has not been effective in the total elimination of *E. faecalis*. The invasion of microorganisms within the dentinal tubules reinforces the importance of using temporary dressing between sessions, which is justified by the fact that, despite the RCP protocols associated with different irrigation and new technologies allows a

significant reduction in the number of micro-organisms, not completely eliminate them from the root canal system [8, 56,57].

It can be concluded that the Endox system used after the root canal preparation, together with conventional irrigation or passive ultrasonic irrigation with NaOCl / EDTA was not effective in eliminating *E. faecalis*.

Conflicts of interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

References

- [1] A. Molander, et al., "Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis". *Int Endodo J*, vol.31, pp.1-7, 1998.
- [2] G. Sundqvist, et al., "Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment". *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, vol.85, pp.86–93, 1998.
- [3] P. N. Nair, et al., "Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: A long-term light and electron microscopic follow-up study". *J Endod*, vol.16, no.12, pp.580-588, 1990.
- [4] R. M.Love, "*Enterococcus faecalis* – a mechanism for its role in endodontic failure". *Int Endod J*, v.34, pp.399-405, 2001.
- [5] J. F. Siqueira Jr, "Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail". *Inter Endod J*, vol.34, pp.1-10, 2001.
- [6] J. F. Siqueira Jr. and N. Rôças, "Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment". *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, vol.97, pp.85-94, Jan. 2004.
- [7] M. Zehnder and B. Guggenheim, "The mysterious appearance of enterococci in filled root canals". *Inter Endod J*, vol.42, pp.277-287, 2009.
- [8] C. Estrela et al., "Influência de estratégias de sanificação no sucesso do tratamento da periodontite apical". *Rev Odontol Bras Central*, v.21, n.56, pp.367-375, 2012a.
- [9] J. D.Pécora et al., "Detection of root canal isthmus in molars by map-reading dynamic using CBCT images". *Brazi Dent J*, vol.24, no.6, pp.569-574, 2013.

- [10] M. K. Wu et al., "Prevalence and extend of long oval canals in the apical third". *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, vol.89, pp.739-43, 2000.
- [11] M.K. Wu. et al. Does the first file to bind correspond to the diameter of the canal in the apical region? *Inter. Endod. J.*, vol.35, pp.264-267, 2002.
- [12] P. N. Nair et al., "Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment". *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, vol.99, pp.231-52, 2005.
- [13] J. D. Pécora et al., "Influence of cervical preflaring on apical file size determination". *Inter Endod J*, vol.38, pp.430-435, 2005.
- [14] F. Paqué et al., "Hard-Tissue Debris Accumulation Analysis by High-Resolution Computed Tomography Scans". *J Endod*, vol.35, no.7, pp.1044-47, 2009.
- [15] J. G. Freire, "Avaliação do preparo de canais radiculares com instrumentos rotatórios torcidos e usinados, por meio de cortes transversais e da microtomografia computadorizada". 2010. Dissertação, Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 2010.
- [16] C.Estrela et al., "Characterization of successful root canal treatment". *Braz Dent J*, v.25, n.1, pp.3-11, 2014.
- [17] B. Basrani and M. Haapasalo, "Update on endodontic irrigating solutions". *Endod Topics*, vol.27, pp.74-102, 2012.
- [18] M. Hülsmann, "Effects of mechanical instrumentation and chemical irrigation on the root canal dentin and surrounding tissues". *Endod Topics*, v.29, pp.55-86, 2013.
- [19] M. Haapasalo et al., "Irrigation in endodontics". *Dent Clin North Am*, n.54, 2, pp.291-312, 2010.
- [20] C. Estrela et al., "Mechanism of Action of sodium hypochlorite". *Braz Dent J*, v.13, n.2, pp.113-117, 2002.
- [21] J. A. Silva et al., "A critical analysis of the sanitization strategies on root canal cleaning". *Stomatos*, vol.19, no.37, pp.48-59, 2013.
- [22] M Zehnder, "Root canal irrigants". *J Endod*, vol.32, no.5, pp.389-98, 2006.
- [23] C.Estrela et al., "Control of microorganisms in vitro by endodontic irrigants". *Braz Dent J*, n.14, v.3, pp.187-92, 2003.

- [24] L. Giardino et al., "Antibacterial power of sodium hypochlorite combined with surfactants and acetic acid". *Braz Dent J*, 25, n.4, pp.289-294, 2014.
- [25] L. Gu et al., "Review of contemporary irrigante agitation techniques and devices". *J Endod*, v.35, n.6, pp. 791-804, 2009.
- [26] A. Goodman et al., "An in vitro comparison of the efficacy of the Step-Back Tecnique versus a Step-Back/Ultrasonic Technique in human mandibular molars". *J Endod*, v.11, n.6, pp.249-56, 1985.
- [27] L.W.M. Van Der Sluis et al., "Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature". *Inter Endod J*, vol.40, pp.415-426, 2007 (b).
- [28] R. Paragliola et al., "Final rinse optimization: influence of different agitation protocols". *J Endod*, vol.36, no.2 pp.282-285, 2010.
- [29] T. Rödiger et al., "Efficacy of syringe irrigation, RinsEndo and passive ultrasonic irrigation in removing debris from irregularities in root canals with different apical sizes". *Inter Endod J*, vol.43, pp.581-589, 2010.
- [30] J. Huque et al. "Bacterial eradication from root dentine by ultrasonic irrigation with sodium hypochlorite". *Inter Endod J*, n.31 pp.242-250, 1998.
- [31] L.W.M. Van Der Sluis et al., "An evaluation of influence of passive ultrasonic irrigation on the seal of root canal fillings". *Inter Endod J*, vol.40, pp.356-361, 2007 (a).
- [32] C. Haffner et al., "Das Endox – Endodontiesystem". *ZWR*, v.106, n.12, pp. 764-767, 1997.
- [33] V. Sacchi, "Description of the system". In: Symposium on Endodontics, Malaga, Dec. 2000.
- [34] C. Haffner and C.Benz, "Das HR Endox- Endodontie-system: Weitere Laborergebnisse und erste Klinische Resultate". *ZWR.*, v.108, pp.670-4, 1999.
- [35] F. Al-Shaheri and S. Al-Nazhan, "SEM study of the effect of heat on dentin structure of root canal system treated by Endox and ND: YAP Laser". *Saudi Dent J*, vol. 14, no.2, pp. 73-6, 2002.
- [36] M. Lendini et al., "The effect of highfrequency electrical pulses on organic tissue in root canals", *Int Endod J*, vol.38, pp.531-8, 2005.
- [37] A. Virtej et al., "Determination of the performance of various root canal disinfection methods after in situ carriage". *J Endod*, vol.33, no.8, pp.926-929, 2007.

- [38] I.M.A. Mammani et al., "Efficacy of Endox Endodontic System in eradication of *Enterococcus faecalis* from infected pulp". *Rawal Medical J*, v.35, n.1, pp. 48-50, 2010.
- [39] A.R. Aranda-Garcia et al., "Antibacterial effectiveness of several irrigating solutions and the Endox Plus System – an ex vivo study". *Interl Endod J*, vol.45, no.12, pp.1091-6, 2012.
- [40] C. Estrela et al., "Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals". *Int Endod J*, v.40, pp. 85-93, 2007.
- [41] R. Dornelles-Morgental et al., "Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*". *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, vol.112, pp.396-400, 2011.
- [42] J. Vera et al., "One- versus Two-visit Endodontic Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Histobacteriologic Study". *J Endod*, vol.38, no.8, pp.1040-1052, 2012.
- [43] D.T.S. Wong and G.S.P.A. Cheung, "Extension of Bactericidal Effect of Sodium Hypochlorite into Dentinal Tubules". *J Endod*, vol.40, no.6, pp.825-829 2014.
- [44] J.I.Hockett et al., "Antimicrobial efficacy of two irrigation techniques in tapered and nontapered canal preparations: an in vitro study". *J Endod*, vol.34, no.11, pp.1374-1377, 2008.
- [45] G.Debelian and G.B. Sydney, "Sistema BioRace: segurança e eficiência". *Rev Odontol Bras Central*, vol.18, no.45, pp.62-7, 2009.
- [46] C. Estrela et al. "Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*-A systematic review". *J. Appl. Oral Sci.*, vol.16, no.6, pp.364-368, 2008.
- [47] F.R.F. Alves et al. "Disinfecting oval-shaped root canals: effectiveness of different supplementary approaches". *J. Endod.*, vol.37, no.4, p.496-501, 2011.
- [48] B. Bhuvan et al., "The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms in extracted single-rooted human teeth". *Inter Endod J*, vol.43, pp.241-250, 2010.

- [49] C. Gregorio, C. *et al.* "Efficacy of different irrigation and activation systems on the penetration of sodium hypochlorite into simulated lateral canals and up to working length: Na in vitro study". *J Endod.*, vol.36, no.7, pp1216-1221, 2010.
- [50] C. Estrela, *et al.* "A model system to study antimicrobial strategies in endodontic biofilms". *J Appl Oral Sci*, vol.17, no.2, pp.87-91, 2009 (b).
- [51] R. Karale *et al.*, "An evaluation of antibacterial efficacy of 3% sodium hypochlorite, highfrequency alternating current and 2% chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*: an in vitro study". *J Conserv Dent*, vol.14, no.1, pp. 2–5, 2011.
- [52] M.T. Arias-Moliz "Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants", *J Endod*, vol.35, no.5, p.711-714, 2009.
- [53] L.C.S. Beatrice *et al.*, "PCR e o perfil microbiológico das infecções endodônticas: realidade ou utopia?" *Odont. Clín. Científ.* vol.7, no.4, pp.295-298, 2008.
- [54] C. Estrela *et al.*, "A preliminary study of the antibacterial potencial of cetylpyridinium chloride in root canals infected by *E. faecalis*". *Braz. Dent. J.* vol.23, no.6, pp.645-653, 2012(b).
- [55] L.P. Tyrone.; A.S. Nicholas, "Molecular bacteriology: a diagnostic tool for the millennium". *J. Clin. Pathol.* vol.53, pp.71-75, 2000.
- [56] Estrela, C. *et al.* "Antibacterial efficacy of intracanal medicaments on bacterial biofilm: a critical review". *J Appl Oral Sci*, vol.17, no.1, pp.1-7, 2009(a).
- [57] A. Law; H. Messer, "An evidence-based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments". *J. Endod.* vol.30, pp.689-94, 2004.

ANEXO A

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - UFG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO SISTEMA ENDOX NO TRATAMENTO DE CANAIS RADICULARES

Pesquisador: ALESSANDRA ROSSI COELHO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 26119014.2.0000.5083

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE GOIÁS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 571.370

Data da Relatoria: 07/04/2014

Apresentação do Projeto:

Título: AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO SISTEMA ENDOX NO TRATAMENTO DE CANAIS RADICULARES; **Pesquisador:** ALESSANDRA ROSSI COELHO; **Instituição Proponente:** Faculdade de Odontologia / UFG; **Equipe:** Ana Helena Gonçalves de Alencar, Carlos Estrela, Daniel de Almeida Decúrcio, Denise Ramos Silveira Alves e João Batista de Souza. Serão selecionados 70 dentes anteriores, padronizados nos seus diâmetros iniciais com o Sistema BioRace, contaminados para formação de biofilme e aleatoriamente divididos em seis grupos experimentais. Posteriormente os dentes serão preparados para análise dos resultados utilizando-se os métodos de cultura e Microscopia Eletrônica de Varredura.

Objetivo da Pesquisa:

Verificar a efetividade do sistema Endox como substituto ou coadjuvante no preparo biomecânico dos canais radiculares. **Objetivo Secundário:** Verificar o efeito antimicrobiano do Sistema Endox associado ou não ao preparo do canal radicular por meio de cultura. Verificar o efeito antimicrobiano do Sistema Endox associado ou não ao preparo do canal radicular por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Verificar o efeito antimicrobiano Sistema Endox associado ou não ao preparo do canal radicular com NaOCl 2,5% e EDTA 17%. Verificar o efeito antimicrobiano Sistema Endox associado ou não ao preparo do canal radicular com água destilada.

Endereço: Prédio de Retoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1183

E-mail: cep.pppg.ufg@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - UFG



Continuação do Parecer: 571.370

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os dentes serão extraídos, independente da realização desta pesquisa, por finalidade periodontal ou protética após definição criteriosa do diagnóstico e plano de tratamento. O procedimento cirúrgico seguirá o protocolo definido pela Disciplinas Clínicas da Faculdade de Odontologia/UFG. Possíveis desconfortos pós-operatórios, como dor ou infecção, serão tratados com a terapêutica medicamentosa proposta pela disciplina de cirurgia. O paciente terá seu tratamento odontológico continuado nas clínicas de reabilitação da Faculdade de Odontologia. Caso o paciente não seja institucionalizado, este será orientado a procurar o SEAP (Serviço de Atendimento ao Paciente) da mesma Faculdade ou encaminhado para Unidade Básica de Saúde da Rede Municipal de Saúde. Benefícios: O paciente doador não terá benefício direto com a realização da pesquisa, uma vez que seu tratamento será realizado independente da sua participação, porém estará contribuindo para o avanço científico, que por sua vez, poderá trazer benefícios futuros no tratamento dos canais radiculares. Não haverá qualquer tipo de compensação financeira. O paciente terá seu direito de indenização garantido caso ocorra algum dano decorrente do tratamento cirúrgico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Nº de participantes da pesquisa: 70; Coleta de dados: 01/04/2014 01/05/2014; Orçamento detalhado de R\$ 7.225,00; custeado com recursos da FAPEG. O TCLE encontra-se adequado aos objetivos da pesquisa e ressalta que manterão a privacidade e confidencialidade dos participantes, mantendo os dados em anonimato e com previsão de divulgação apenas com a finalidade científica. Disponibilizaram números de telefones com possibilidades de ligações a cobrar. Reafirmam que não terá nenhum benefício financeiro, mas que a participação será importante para o avanço técnico científico do assunto. Também que poderão retirar o consentimento de participação, a qualquer momento, sem nenhum tipo de penalidade e com a garantia de continuidade do tratamento odontológico. Verifica-se que há condições para o desenvolvimento da pesquisa, tanto em infraestrutura, bem como de capacidade dos profissionais envolvidos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentaram os seguintes documentos: Informações Básicas do Projeto; Folha de Rosto;

TCLE - Modelo de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Os Currículos do Sistema Lattes de todos os pesquisadores; Documento para o LABIMIC; Termo de Compromisso dos pesquisadores; Projeto Detalhado;

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prppg.ufg@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - UFG



Continuação do Parecer: 571.370

Recomendações:

Salientamos que os profissionais envolvidos no plano de tratamento que diz respeito a extração dentária não podem ser os diretamente os envolvidos pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A partir da análise dos documentos apresentados, sugiro a aprovação do p.p., SMUJ

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Enviar relatórios parcial e final.

GOIANIA, 27 de Março de 2014

Assinador por:
Divina Marques
(Coordenador)

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia CEP: 74.001-970
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 Fax: (62)3521-1163 E-mail: cep.pppg.ufg@gmail.com

ANEXO B

THE SCIENTIFIC WORLD JOURNAL

Author Guidelines

The Scientific World Journal is a peer-reviewed, open access journal covering a wide range of subjects in science, technology, and medicine. The journal's Editorial Board as well as its Table of Contents are divided into 98 subject areas that are covered within the journal's scope.

Submission

Manuscripts should be submitted by one of the authors of the manuscript through the online Manuscript Tracking System. Regardless of the source of the word-processing tool, only electronic PDF (.pdf) or Word (.doc, .docx, .rtf) files can be submitted through the MTS. There is no page limit. Only online submissions are accepted to facilitate rapid publication and minimize administrative costs. Submissions by anyone other than one of the authors will not be accepted. The submitting author takes responsibility for the paper during submission and peer review. If for some technical reason submission through the MTS is not possible, the author can contact tswj@hindawi.com for support.

Terms of Submission

Papers must be submitted on the understanding that they have not been published elsewhere and are not currently under consideration by another journal published by Hindawi or any other publisher. The submitting author is responsible for ensuring that the article's publication has been approved by all the other coauthors. It is also the authors' responsibility to ensure that the articles emanating from a particular institution are submitted with the approval of the necessary institution. Only an acknowledgment from the editorial office officially establishes the date of receipt. Further correspondence and proofs will be sent to the author(s) before publication unless otherwise indicated. It is a condition of submission of a paper that the authors permit editing of the paper for readability. All enquiries concerning the publication of accepted papers should be addressed to tswj@hindawi.com.

Peer Review

All manuscripts are subject to peer review and are expected to meet standards of academic excellence. Submissions will be considered by an editor and “if not rejected right away” by peer-reviewers, whose identities will remain anonymous to the authors.

Microarray Data Submission

For any article that includes microarray data, this data should be deposited in an appropriate database such as Gene Expression Omnibus (GEO) or Array Express, and an entry name or accession number must be included in the manuscript prior to its publication. Microarray data should be MIAME compliant. During the reviewing process, submitting authors are committed to provide the editor and the reviewers handling his/her manuscript with the login information by which they can access this information in the database.

Concurrent Submissions

In order to ensure sufficient diversity within the authorship of the journal, authors will be limited to having two manuscripts under review at any point in time. If an author already has two manuscripts under review in the journal, he or she will need to wait until the review process of at least one of these manuscripts is complete before submitting another manuscript for consideration. This policy does not apply to Editorials or other non-peer reviewed manuscript types.

Article Processing Charges

The Scientific World Journal is an open access journal. Open access charges allow publishers to make the published material available for free to all interested online visitors. For more details about the article processing charges of The Scientific World Journal , please visit the Article Processing Charges information page.

Units of Measurement

Units of measurement should be presented simply and concisely using System International (SI) units.

Title and Authorship Information

The following information should be included

Paper title

Full author names

Full institutional mailing addresses

Email addresses

Abstract

The manuscript should contain an abstract. The abstract should be self-contained and citation-free and should not exceed 200 words.

Introduction

This section should be succinct, with no subheadings.

Materials and Methods

This part should contain sufficient detail so that all procedures can be repeated. It can be divided into subsections if several methods are described.

Results and Discussion

This section may each be divided by subheadings or may be combined.

Conclusions

This should clearly explain the main conclusions of the work highlighting its importance and relevance.

Acknowledgments

All acknowledgments (if any) should be included at the very end of the paper before the references and may include supporting grants, presentations, and so forth.

References

Authors are responsible for ensuring that the information in each reference is complete and accurate. All references must be numbered consecutively and citations of references in text should be identified using numbers in square brackets (e.g., “as discussed by Smith [9]”; “as discussed elsewhere [9, 10]”). All references should be cited within the text; otherwise, these references will be automatically removed.

Preparation of Figures

Upon submission of an article, authors are supposed to include all figures and tables in the PDF file of the manuscript. Figures and tables should not be submitted in separate files. If the article is accepted, authors will be asked to provide the source files of the figures. Each figure should be supplied in a separate electronic file. All figures should be cited in the paper in a consecutive order. Figures should be supplied in either vector art formats (Illustrator, EPS, WMF, FreeHand, CorelDraw, PowerPoint, Excel, etc.) or bitmap formats (Photoshop, TIFF, GIF, JPEG, etc.). Bitmap images should be of 300 dpi resolution at least unless the resolution is intentionally set to a lower level for scientific reasons. If a bitmap image has labels, the image and labels should be embedded in separate layers.

Preparation of Tables

Tables should be cited consecutively in the text. Every table must have a descriptive title and if numerical measurements are given, the units should be included in the column heading. Vertical rules should not be used.

Proofs

Corrected proofs must be returned to the publisher within 2-3 days of receipt. The publisher will do everything possible to ensure prompt publication. It will

therefore be appreciated if the manuscripts and figures conform from the outset to the style of the journal.

Copyright

Open Access authors retain the copyrights of their papers, and all open access articles are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided that the original work is properly cited.

The use of general descriptive names, trade names, trademarks, and so forth in this publication, even if not specifically identified, does not imply that these names are not protected by the relevant laws and regulations.

While the advice and information in this journal are believed to be true and accurate on the date of its going to press, neither the authors, the editors, nor the publisher can accept any legal responsibility for any errors or omissions that may be made. The publisher makes no warranty, express or implied, with respect to the material contained herein.

Disclosure Policy

A competing interest exists when professional judgment concerning the validity of research is influenced by a secondary interest, such as financial gain. We require that our authors reveal any possible conflict of interests in their submitted manuscripts.

If there is no conflict of interests, authors should state that “The author(s) declare(s) that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.”

Clinical Study

When publishing clinical studies, Hindawi aims to comply with the recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) on trials registration. Therefore, authors are requested to register the clinical trial presented in the manuscript in a public trials registry and include the trial registration number at the end of the abstract. Trials initiated after July 1, 2005 must be

registered prospectively before patient recruitment has begun. For trials initiated before July 1, 2005, the trial must be registered before submission.

International Commission on Zoological Nomenclature

When publishing papers which describe a new zoological taxon name, Hindawi aims to comply with the requirements of the International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN). Therefore, for all papers that include the naming of a new zoological taxon, authors are requested to contact Zoobank, the online registration system for the International Commission on Zoological Nomenclature, to obtain a Life Science Identifier (LSID). Moreover, authors are requested to insert the following text in the “Materials and Methods” section, in a subsection to be called “Nomenclatural Acts”:

The new names contained in this article are available under the International Code of Zoological Nomenclature. This work and the nomenclatural acts it contains have been registered in ZooBank. Zoobank Life Science Identifier (LSID) for this publication is: urn:lsid:zoobank.org:pub: XXXXXXXX. The LSID registration and any associated information can be viewed in a web browser by adding the LSID to the prefix “<http://zoobank.org/>.”

Ethical guidelines

In any studies that involve experiments on human or animal subjects, the following ethical guidelines must be observed. For any human experiments, all work must be conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (1964). Papers describing experimental work on human subjects who carry a risk of harm must include a statement that the experiment was conducted with the understanding and the consent of the human subject, as well as a statement that the responsible Ethical Committee has approved the experiments. In the case of any animal experiments, the authors should provide a full description of any anesthetic and surgical procedure used, as well as evidence that all possible steps were taken to avoid animal suffering at each stage of the experiment.