

**Autor para**

**correspondência:** Maria Eduarda Paterno de Lima







**E-mail:**

mariaeduarda\_paternodelima@hotmail.com

**Declaração de Interesses:**

Os autores certificam que não têm nenhum interesse comercial ou associativo que represente um conflito de interesses em conexão com o manuscrito

## Análise comparativa da redução microbiana em canais radiculares instrumentados com limas Prodesign M® e Reciproc® contaminados por *Enterococcus faecalis*: estudo *in vitro*

Maria Eduarda Paterno de Lima<sup>1</sup> , Maria Eliza Schulhan de Paula<sup>2</sup> , Emilly Cirilo dos Santos<sup>3</sup> , Paula Assis Queiroz<sup>4</sup> , Saulo Ancelmo de Souza Júnior<sup>5</sup> , Thamara Costa dos Santos Maluf<sup>6</sup> 

A endodontia tem como principal finalidade a eliminação de microrganismos do sistema de canais radiculares e a prevenção de infecções de repetição, sendo a instrumentação associada à irrigação fatores essenciais para o sucesso do tratamento. Nesse contexto, a evolução das técnicas e dos instrumentos endodônticos, especialmente com a introdução de sistemas mecanizados, tem proporcionado maior eficiência na limpeza e modelagem dos canais. Assim, o presente estudo buscou comparar a eficácia de dois sistemas de instrumentação endodôntica — limas manuais ProDesign M® e limas reciprocantes Reciproc® — na redução microbiana do sistema de canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis*. Trata-se de uma pesquisa experimental, laboratorial, do tipo *in vitro*, com abordagem quantitativa e caráter comparativo, realizada com dentes humanos extraídos, previamente esterilizados e contaminados em condições controladas. As amostras foram distribuídas em grupos experimentais e controle, sendo submetidas à instrumentação conforme o sistema proposto. Após o preparo dos canais, realizou-se a coleta microbiológica por meio da técnica de semeadura em placas de ágar sangue, seguida de incubação e contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Os resultados demonstraram redução significativa da carga bacteriana nos grupos instrumentados em comparação ao controle positivo, porém sem diferença estatisticamente significativa entre os sistemas avaliados ( $p > 0,05$ ). Conclui-se que ambos os métodos apresentam eficácia semelhante na desinfecção dos canais radiculares, ressaltando a importância da associação com soluções irrigadoras para potencializar a redução microbiana.

**Palavras-chave:** Endodontia. Desinfecção. *Enterococcus faecalis*.

### Comparison of the Efficiency of Microbial Reduction in the Root Canal System Between ProDesign M® and Reciproc® Files in Canals Contaminated with *Enterococcus faecalis*: An *In Vitro* Study

Endodontics is primarily concerned with eliminating microorganisms from the root canal system and preventing reinfection, with instrumentation and irrigation being essential factors for treatment success. In this context, advances in techniques and endodontic instruments, particularly with the introduction of mechanized systems, have improved the efficiency of canal cleaning and shaping. Thus, the present study sought to compare the effectiveness of two endodontic instrumentation systems—ProDesign M® manual files and Reciproc® reciprocating files—in reducing microbial load in root canal systems contaminated with *Enterococcus faecalis*. This is an experimental, laboratory-based *in vitro* study with a quantitative and comparative design, conducted using extracted human teeth that were previously sterilized and contaminated under controlled conditions. The samples were divided into experimental and control groups and subjected to instrumentation according to the proposed system. After canal preparation, microbiological sampling was performed using the seeding technique on blood agar plates, followed by incubation and counting of Colony-Forming Units (CFU). The results showed a significant reduction in bacterial load in the instrumented groups compared to the positive control; however, no statistically significant difference was found between the evaluated systems ( $p > 0.05$ ). It can be concluded that both methods have similar effectiveness in root canal disinfection, highlighting the importance of combining instrumentation with irrigating solutions to enhance microbial reduction.

**Keywords:** Endodontics. Disinfection. *Enterococcus faecalis*.

<sup>1, 2, 3</sup> Discente do curso de Odontologia do Centro Universitário Integrado, Paraná.

<sup>4</sup> Docente do curso de Medicina do Centro Universitário Integrado, Paraná, Brasil.

<sup>5</sup> Docente do curso de Odontologia do Centro Universitário Integrado, Paraná, Brasil.

<sup>6</sup> Docente do curso de Odontologia do Centro Universitário Integrado, Paraná, Brasil.

## INTRODUÇÃO

A endodontia é a especialidade da odontologia responsável pelo diagnóstico, prevenção e tratamento das alterações que acometem a polpa dentária e os tecidos periapicais. Nesse contexto, o principal objetivo do tratamento endodôntico é a eliminação dos microrganismos presentes no sistema de canais radiculares — com destaque para *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* — bem como a prevenção de uma possível reinfecção (regrowth). Para o sucesso desse tratamento, a desinfecção, associada a uma adequada limpeza e modelagem dos canais é essencial, enquanto a qualidade do preparo endodôntico está relacionado à manutenção da anatomia original do canal, respeitando sua curvatura, formato cônico e posição original do forame (1,2).

Sob essa perspectiva, as limas endodônticas consistem em instrumentos compostos por ligas metálicas que auxiliam na modelagem do sistema de canais radiculares e podem variar quanto ao material, função e a forma de utilização, podendo ser manual ou mecanizada (3).

Nas últimas décadas, a endodontia tem passado por uma evolução expressiva, especialmente no que se refere às técnicas de preparo dos canais radiculares. A substituição progressiva da instrumentação manual pela mecanizada representa um dos principais marcos desse avanço, proporcionando maior previsibilidade e padronização dos procedimentos clínicos. Com a introdução da liga de níquel-titânio (NiTi), que apresenta elevada flexibilidade e memória de forma, tornou-se possível acompanhar com maior precisão as curvaturas dos canais, reduzindo riscos como desvios, transportes e perfurações (4,5,6).

Posteriormente, o desenvolvimento dos sistemas rotatórios e reciprocantes potencializou ainda mais esses benefícios, permitindo uma modelagem mais eficiente, rápida e segura dos canais radiculares. Estudos indicam que esses instrumentos apresentam desempenho superior quando comparados às técnicas manuais, principalmente em termos de qualidade do preparo, manutenção da anatomia original e redução do tempo clínico. Além disso, a mecanização contribui para uma melhoria dos irrigantes, favorecendo a desinfecção do sistema de canais e, conseqüentemente, aumentando as taxas de sucesso do tratamento endodôntico (4,6, 7).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo comparar a eficácia de dois sistemas de instrumentos endodônticos - limas ProDesign M® e limas Reciproc® - na descontaminação do sistema de canais radiculares previamente contaminados com *Enterococcus faecalis*.

## MÉTODO

Trata-se de uma pesquisa experimental, de natureza laboratorial, do tipo *in vitro*, com abordagem quantitativa e caráter comparativo, que teve como finalidade analisar e comparar a eficácia de diferentes sistemas de instrumentação endodôntica na redução microbiana do sistema de canais radiculares. O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro Universitário Integrado, e pela Plataforma Brasil, com Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE)

74281323.1.0000.0092. Para a realização do estudo, foram coletados 64 dentes molares humanos extraídos, obtidos por meio de doações de consultórios odontológicos, mediante assinatura do termo de consentimento pelos pacientes.

Como critérios de inclusão, foram selecionados molares birradiculares humanos, superiores e inferiores, que apresentassem raízes distais preservadas, contendo apenas um canal radicular, ápices totalmente formados e ausência de tratamento endodôntico anterior, bem como ausência de reabsorções internas ou externas. Foram excluídos da pesquisa dentes com fraturas radiculares, calcificações acentuadas, curvaturas severas, rizogênese incompleta, lesões cariosas extensas que comprometessem a raiz ou alterações anatômicas capazes de interferir na padronização da amostra e na obtenção dos resultados.

Inicialmente, foram realizadas radiografias em dentes hígidos (Figura 1: A), por meio de sensor digital, utilizando tempo de exposição de 0,2 segundos ao feixe de raio x, e divididas em números de 1 a 64. Verificou-se então a presença de canais unitários em raízes distais, ausência de tratamentos endodônticos e a inexistência de alterações anatômicas, de modo que, 42 molares foram selecionados para compor a amostra. Em seguida, realizou-se a preparação das amostras por meio da secção das raízes distais de molares, padronizadas em 1 centímetro, com auxílio de peça reta e discos de carburundum. Posteriormente, os canais radiculares foram explorados com limas tipo K #10 e K #15, inseridas até sua visualização via forame apical, a fim de confirmar a patência e padronizar o preparo inicial das amostras.

As amostras passaram por avaliação radiográfica (Figura 1: B) utilizando novamente, o tempo de exposição de 0,2 segundos ao feixe de raio x. Logo após, as raízes dentárias receberam duas camadas de esmalte vermelho, com a finalidade de impermeabilização, e os canais radiculares foram irrigados com hipoclorito de sódio a 1%. Após essa etapa, os espécimes foram armazenados em grau cirúrgico (devidamente identificados) e encaminhados para esterilização em autoclave. Posteriormente, realizou-se a contaminação prévia com *Enterococcus faecalis*, mantendo-se as amostras em condições laboratoriais controladas durante todo o período experimental.

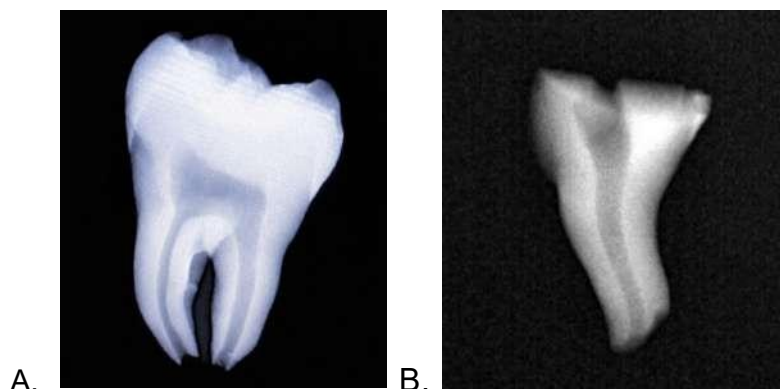


Figura 1 - A: Radiografia periapical de dente humano extraído com dois canais bem definidos, evidenciando a configuração interna do sistema de canais radiculares; B: Radiografia periapical de raiz distal dente humano extraído e seccionado.

## PROTOCOLO DE CONTAMINAÇÃO DAS AMOSTRAS

Quarenta e dois dentes humanos extraídos foram divididos em três grupos (n=14 para os grupos 1, 2 e controle positivo) e três dentes adicionais como controle negativo. A contaminação foi realizada com *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) de acordo com metodologia adaptada de Andrade *et al.*, 2015. Após a padronização da cultura de *E. faecalis* (escala nefelométrica número 1 de Mcfarland -  $3 \times 10^8$  de bactérias por mL), 1000  $\mu$ L do inóculo foram inseridos em microtubos Eppendorf contendo as amostras de dentes previamente esterilizadas. Os tubos foram submetidos a centrifugações sucessivas (2.000, 3.600 e 5.600 g, em ciclos de 5 min para cada velocidade), com renovação do inóculo entre os ciclos. Após os três ciclos de centrifugação, adicionou-se o caldo BHI estéril, e os microtubos foram agitados em um vórtice e incubados a 37°C por 24 h (1, 7).

No segundo dia, os tubos foram agitados em vórtice por 10 s, e o inóculo dos microtubos foi renovado, seguido de nova centrifugação a 3.600 g por 5 minutos. Os microtubos foram incubados novamente a 37°C por 24 horas.

## INSTRUMENTAÇÃO E SEMEADURA

Após o protocolo de contaminação, os espécimes foram submetidos à instrumentação endodôntica, sendo distribuídos em dois grupos experimentais.

No Grupo 1 (ProDesign M®), a instrumentação foi realizada manualmente por meio de sequência progressiva de limas, seguindo técnica padronizada até o preparo apical final compatível com o diâmetro do canal.

No Grupo 2 (Reciproc®), utilizou-se sistema recíprocante com instrumento único (R25), acionado por motor elétrico em modo específico para movimento recíprocante, conforme as recomendações do fabricante. A instrumentação foi realizada com movimentos de inserção e retirada (pecking motion), sem aplicação de pressão apical excessiva.

Em ambos os grupos, o comprimento de trabalho foi determinado previamente em 1 mm aquém do forame apical, permanecendo padronizado durante toda a etapa de preparo químico-mecânico. Ao longo da instrumentação, realizou-se irrigação contínua com hipoclorito de sódio a 1%, seguido por irrigação final com solução fisiológica, com a finalidade de neutralizar a ação do NaOCl.

Todos os procedimentos foram realizados por operadores previamente calibrados, sendo dois responsáveis pelas amostras do grupo 1 e dois pelas do grupo 2, com o objetivo de minimizar variáveis operacionais. As condições experimentais foram padronizadas entre os grupos, diferindo apenas quanto ao sistema de instrumentação empregado.

O grupo controle negativo foi apenas seco com cones de papel estéreis. A seguir, em todos os grupos, um cone estéril foi inserido no canal radicular e realizou-se a semeadura pela técnica de Maki (rolamento) em placas de Petri contendo ágar sangue.

Todas as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após esse período, procedeu-se com a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) para cada grupo, por meio do software Promega Colony Counter versão 1.5.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

A comparação da eficácia antimicrobiana entre as limas manuais e reciprocantes foi realizada com base na contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC). O teste de normalidade de Shapiro-Wilk indicou distribuição não normal dos dados, o que inviabilizou o uso de testes paramétricos. Dessa forma, aplicou-se o teste de Mann-Whitney um método não paramétrico que compara dois grupos independentes com base na distribuição dos dados (ranks), adotando-se nível de significância de 5%. As análises foram conduzidas no software Jamovi® (v. 2.6.26), adotando-se nível de significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após protocolo de contaminação das amostras, o grupo controle positivo (não instrumentado) apresentou um crescimento acima de  $10^5$  UFC, considerado um crescimento superior ao limite quantificável ( $>10^5$  UFC) após 24 horas de incubação (Figura 2: A). Os grupos tratados apresentaram uma redução significativa de colônias em comparação com o controle positivo não-tratado (Figura 2: B e C).

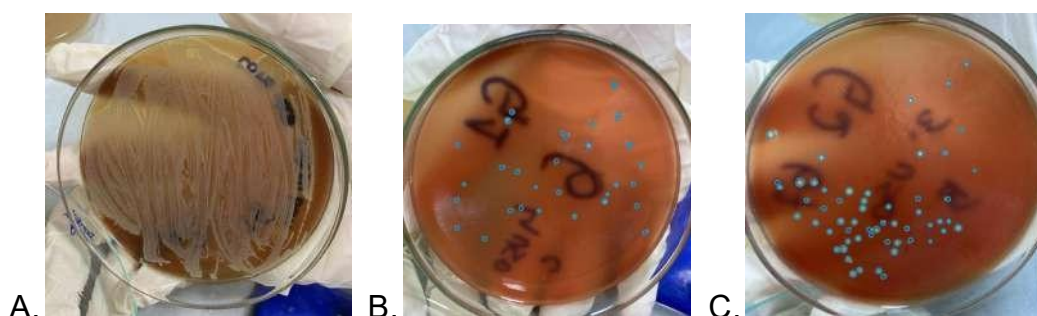


Figura 2 - Imagens representativas das placas de ágar sangue após 24 horas de incubação a 37 °C, evidenciando a quantidade de colônias bacterianas de *E. faecalis* após os diferentes protocolos de instrumentação. A - controle positivo; B - grupo instrumentado com limas manuais (ProDesign M®); C - grupo instrumentado com limas rotatórias (Reciproc®).

Para avaliar a eficácia antimicrobiana entre as limas manuais e as limas reciprocantes, foi realizada uma análise comparativa baseada na contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Inicialmente, aplicou-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk (Tabela 1) para verificar a distribuição dos dados em ambos os grupos.

Tabela 1 – Teste à Normalidade (Shapiro - Wilk)

	W	p
UFC	0.911	0.021

Nota. Um p-value pequeno sugere a violação do pressuposto da normalidade

Os resultados indicaram que os dados de UFC dos grupos analisados (limas manuais e limas reciprocantes) não seguem uma distribuição normal, o que inviabiliza o uso de testes paramétricos como o teste *t* de Student. Diante disso, optou-se pela aplicação do teste de Mann-Whitney, uma alternativa não paramétrica apropriada para

comparar dois grupos independentes com distribuição não normal.

Na comparação estatística entre os grupos, o teste de Mann-Whitney (Tabela 2) revelou não haver diferença estatisticamente significativa entre as limas manuais e reciprocantes na redução microbiana ( $p = 0,839$ ) (Tabela 3).

Tabela 2 - Teste de Mann-Whitney

Grupo		N	Média	Mediana	Desvio - padrão	Erro - padrão
UFC	Lima manual	14	46.6	48.5	26.9	7.19
	Lima reciprocante	14	44.4	41.5	26.8	7.16

Tabela 3 - Teste de Mann-Whitney Para Amostras Independentes

Estatística			p
UFC	U de Mann-Whitney	93.0	0.839

Nota.  $H_a \mu_{\text{lima manual}} \neq \mu_{\text{limas reciprocante}}$

Esse achado sugere que, nas condições experimentais adotadas, ambos os sistemas de instrumentação apresentaram eficácia semelhante na redução das UFCs (Figura 3).

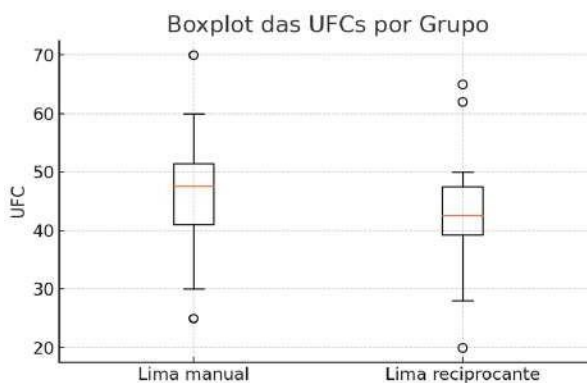


Figura 3 - Distribuição das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) após instrumentação com limas manuais e limas reciprocantes. A linha central representa a mediana, enquanto os limites da caixa indicam o primeiro e o terceiro quartil (Q1 e Q3). Os "whiskers" (extensões) mostram a amplitude dos dados dentro de 1,5x o intervalo interquartil. Ambos os grupos apresentam distribuições semelhantes, sem diferenças estatisticamente significativas ( $p = 0,839$ ; teste de Mann-Whitney).

Portanto, os achados reforçam a eficácia da instrumentação endodôntica, em especial das limas manuais, na redução microbiana. Tal achado encontra-se de acordo com os resultados obtidos no estudo de Nakamura *et al.* (2015), que avaliou a eficácia de instrumentos rotatórios e manuais na desinfecção de 50 pré-molares inferiores humanos, infectados com *E. faecalis*, onde evidenciou-se que 99% das populações bacterianas foram reduzidas após a instrumentação, não havendo diferença estatística entre os

instrumentos (8).

De acordo com Ferrer-Luquer *et al.* (2014), tanto as limas manuais quanto as limas rotatórias apresentam níveis de eficiência semelhantes, porém, o verdadeiro potencial de redução bacteriana do sistema de canais radiculares está associado a substância auxiliar irrigadora, onde o hipoclorito de sódio a 2,5% apresenta a maior capacidade de desinfecção, proporcionando resultados efetivos na redução do biofilme bacteriano intracanal (5, 6, 7).

Da mesma forma, Gorduysus *et al.* (2011) compararam diferentes sistemas rotatórios e a instrumentação manual na eliminação de *Enterococcus faecalis*, demonstrando que todos os métodos foram capazes de reduzir significativamente a carga bacteriana intracanal. No entanto, nenhum dos sistemas promoveu a eliminação completa dos microrganismos, evidenciando que a ação mecânica, embora fundamental, não é suficiente de forma isolada para a desinfecção total do sistema de canais radiculares (8, 9).

Sob a perspectiva clínica, esses resultados sugerem que a escolha do sistema de instrumentação pode estar mais relacionada a fatores como experiência do operador, custo, tempo clínico e anatomia do canal, do que necessariamente à superioridade microbiológica de um sistema sobre o outro. Nesse contexto, a mecanização apresenta vantagens operacionais, como maior padronização e redução do tempo de trabalho, enquanto a instrumentação manual ainda se mostra uma alternativa viável e eficaz, especialmente em situações específicas.

Entretanto, é importante destacar que a literatura tem enfatizado o papel determinante das soluções irrigadoras na redução microbiana intracanal. Estudos como os de Ferrer-Luquer *et al.* (2014) demonstram que, independentemente do sistema de instrumentação utilizado, a eficácia da desinfecção está diretamente relacionada ao protocolo de irrigação adotado, sendo o hipoclorito de sódio amplamente reconhecido como padrão ouro devido à sua capacidade de dissolução tecidual e ação antimicrobiana. Dessa forma, os resultados do presente estudo reforçam a necessidade de associação entre preparo mecânico e irrigação química para obtenção de resultados clínicos mais previsíveis.

Por outro lado, estudos mais recentes têm sugerido possíveis vantagens de sistemas mecanizados em condições específicas. Shanker *et al.* (2023) avaliaram a eficiência de remoção de dentina infectada em molares decíduos utilizando limas manuais Kedo-SH, limas rotatórias Kedo-SG (azul) e Pro AF Baby Gold. Os resultados indicaram que as limas rotatórias proporcionaram uma maior redução na contagem de *E. faecalis* e melhor qualidade de obturação em comparação com as limas manuais (10, 11).

Além disso, Choudhari *et al.* (2023) investigaram a eficácia antimicrobiana de um dispositivo automatizado de irrigação endodôntica em comparação com a irrigação manual convencional. Esses achados indicam que a eficácia da desinfecção endodôntica pode estar mais relacionada à interação entre instrumentação e irrigação do que ao tipo de instrumento isoladamente (12).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo demonstrou que os sistemas de instrumentação manual (ProDesign

M<sup>®</sup>) e reciprocante (Reciproc<sup>®</sup>) apresentaram eficácia semelhante na redução microbiana em canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis*, não havendo diferença estatisticamente significativa entre eles. Os achados reforçam que a instrumentação, independentemente do sistema utilizado, contribui de forma relevante para a desinfecção do sistema de canais radiculares. Vale ressaltar, ainda, a importância da associação da instrumentação com soluções irrigadoras, especialmente o hipoclorito de sódio a 2,5%, que mostra-se fundamental para potencializar a desinfecção do sistema de canais radiculares, proporcionando um tratamento endodôntico eficaz com resultados clínicos mais previsíveis.

## AGRADECIMENTOS

Em agradecimento ao Centro Universitário Integrado pelo apoio institucional e o financiamento concedido à presente pesquisa por meio do programa de iniciação científica, contribuindo significativamente para o desenvolvimento e execução deste estudo.

## REFERÊNCIAS

1. SOUZA, R.E.; BROSCO, V.H.; MORAES, F.G.; BRAMANTE, C.M.; MORAES, I.G.; BERNARDINELLI, N.; GARCIA, R.B. Avaliação clínica do sistema ProTaper na instrumentação de canais de dentes posteriores. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 24, n. 1, p. 53- 57, jan./mar. 2006.
2. WEIS, A. **Avaliação e comparação de instrumentos endodônticos rotatórios de NiTi antes e após o uso clínico**. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
3. SIQUEIRA, J.J.; RÔÇAS, I.N. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. **International endodontic journal**, v. 55, n.3, p.512-530, 2022.
4. DRAGO, M.A.; PEREIRA, R.S. Instrumentos rotatórios Protaper Universal. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, v. 14, n. 2, p. 78-82, jun. 2012.
5. FERRER-LUQUER, C.M.; BEJARANO, I.; RUIZ-LINARES, M.; BACA, P. Reduction in counts – a comparison between rotary and reciprocating systems. **International Endodontic Journal**, v. 47, p. 380–386, 2014.
6. SEMAAN, F.S.; FAGUNDES, F.S.; HARAGUSHIKU, G.; LEONARD, D.P.; BARATTO FILHO, F. Endodontia mecanizada: a evolução dos sistemas rotatórios contínuos. **RSBO - Revista Sul-Brasileira de Odontologia**, v. 6, n. 3, p. 297-309, set. 2009.
7. ANDRADE, F.B.; ARIAS, M.P.; MALIZA, A.G.; DUARTE, M.A.; GRAEFF, M.S.; MOROSO-SILVA, P.A.; MIDENA, R.Z.; MORAES, I.G. A new improved protocol for in vitro intratubular dentinal bacterial contamination for antimicrobial endodontic tests: standardization and validation by confocal laser scanning microscopy. **Journal of Applied Oral Science**, v. 23, n. 6, p. 591-598, 2015.
8. NAKAMURA, V.C.; CANDEIRO, G.T.; CAI, S.; GAVINI, G. Avaliação *ex vivo* de três técnicas de instrumentação em *E. faecalis* biofilme dentro de canais radiculares de formato oval. **Brazilian Oral Research**, v. 29, n. 1, 2015.
9. GORDUYSUS, M.; NAGAS, E.; TORUN, O.Y.; GORDUYSUS, O. A comparison of three rotary systems and hand instrumentation technique for the elimination of *Enterococcus*

*faecalis* from the root canal. **Australian Endodontic Journal**, v. 37, p. 128-133, 2011.

10. SHANKER, K.; PATIL, S.B. Evaluation of the Efficiency to Remove the Infected Dentin via *Enterococcus faecalis* bacterial count and to adequately shape the canal using hand Kedo-SH files, rotary Kedo-SG (blue) and Pro AF Baby Gold files in primary molars: an *in vitro* study. **International Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 16, supl. 2, p.142-148, set. 2023.
11. LENNETTE, E.H.; BALOW, A.; HAUSLER, W.J.; SHADOMY, H.J. Manual of clinical microbiology. Washington, D.C.: **American Society for Microbiology**, 1985.
12. CHOUDHARI, S.P.; VENKATA TEJA, K. Antimicrobial Efficacy of a Novel Automated Irrigation Device As Compared to Conventional Needle Irrigation Against *Enterococcus faecalis*: An *In Vitro* Study. **Cureus**, v. 15, n. 9, e45200, 14 set. 2023.