

EXTRUSÃO APICAL DE IRRIGANTES EM DENTES IMATUROS UTILIZANDO DIFERENTES DISPOSITIVOS DE IRRIGAÇÃO POR PRESSÃO NEGATIVA

Apical extrusion of irrigants in immature teeth using
different negative pressure irrigation devices

 Gabriela Milani^a

 Hermano Camelo Paiva^a

 Eduardo Akisue^a

 Elaine Fraga Iglecias^a

 Carmo Antonio Aun^a

 Érica Mina Miyazima Nunes^a

 Giulio Gavini^a

^aDepartment of Restorative Dentistry, School of Dentistry, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

Autor de correspondência: Hermano Camelo Paiva - E-mail: hermanopaiva@usp.br

Data de envio: 10/09/2023 **Data de aceite:** 26/10/2023



RESUMO

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar a extrusão apical de irrigantes em dentes imaturos simulados, comparando a irrigação convencional com outros dispositivos de irrigação por pressão negativa. **Materiais e Métodos:** 48 amostras de dentes imaturos simulados foram montadas em um modelo adaptado para conter o irrigante extravasado e distribuídas igualmente em 4 grupos (n=12) de acordo com o dispositivo de irrigação utilizado: Grupo Irrigação Convencional (IC), Grupo EndoVac (EV), Grupo Pulp Sucker (PS) e Grupo Ivac (IV). As amostras foram irrigadas com 15mL de solução irrigadora, sendo 10mL de NaOCl a 2,5% e 5mL de EDTA a 17% intercalados. As amostras foram pesadas em balança de precisão antes e depois dos procedimentos de irrigação, sendo a diferença entre os pesos final e inicial considerado o volume de irrigante extravasado. Os dados foram coletados e analisados estatisticamente pelos testes de Kruskal-wallis e exato de Fisher. **Resultados:** Os grupos que utilizaram pressão negativa promoveram significativamente menor volume de irrigante extravasado que o grupo IC ($p<0,05$), não havendo diferenças significativas quando comparados entre si ($p>0,05$). Houve diferenças significativas na associação entre os grupos e a extrusão de irrigante, sendo o grupo PS menos associado a extrusão de irrigante ($p<0,005$). **Discussão:** Estudos anteriores apontam os dispositivos de pressão negativa como opções seguras diante de extravasamento de irrigantes quando comparados à irrigação convencional. **Conclusão:** A irrigação convencional promoveu significativamente maior volume de extrusão de irrigante quando comparada aos dispositivos de irrigação por pressão negativa. O sistema PulpSucker mostrou extravasamento de irrigante em um número significativamente menor de amostras.

Palavras-chave: Endodontia. Irrigantes do canal radicular. Endodontia regenerativa.

ABSTRACT

Aim: The aim of this study was to evaluate the apical extrusion of irrigants in simulated immature teeth, comparing conventional irrigation with other negative pressure irrigation devices. **Materials and methods:** 48 samples of simulated immature teeth were set up in an adapted model to contain the extravasated irrigant and evenly distributed into 4 groups (n=12) according to the device used: Conventional Irrigation Group (CI), EndoVac Group (EV), Pulp Sucker Group (PS) and Ivac Group (IV). The samples were irrigated with 15mL of irrigant solution, consisting of 10mL NaOCl 2,5% and 5mL EDTA 17%, in an alternating sequence. The samples' weights were measured using a precision scale before and after the irrigation procedures, with the difference between the final and initial weights considered the volume of extravasated irrigant. Data were collected and statistically analyzed by Kruskal-wallis and Fisher exact tests. **Results:** The groups that used negative pressure devices significantly promoted a lower volume of extruded irrigant than the CI group ($p<0,05$), with no significant differences between the negative pressure groups ($p>0,05$). There were significant differences in the association between the groups and irrigant extrusion, with the PS group showing significantly less association with irrigant extrusion ($p<0,005$). **Discussion:** Previous studies have indicated that negative pressure devices are safe alternatives to conventional irrigation when considering irrigant extrusion. **Conclusion:** Conventional irrigation promoted a significantly greater volume of irrigant extrusion when compared to negative pressure irrigation devices. The PulpSucker system showed irrigant extravasation in significantly fewer samples. **Keywords:** Endodontics. Root canal irrigants. Regenerative endodontics.

INTRODUÇÃO

O principal objetivo do tratamento endodôntico é eliminar ou prevenir infecções no interior do sistema de canais radiculares e suas repercussões nos tecidos periapicais¹⁻³. Em dentes imaturos necróticos o tratamento torna-se ainda mais desafiador devido à dificuldade para se realizar um selamento adequado. Além disso, as paredes mais finas e frágeis desses dentes aumentam consideravelmente o risco à fratura^{4,5}.

Neste cenário, o tratamento endodôntico regenerativo tem se mostrado uma abordagem promissora, uma vez que tal terapêutica permite a continuidade da formação radicular, diminuindo o risco à fratura⁶. Para evitar maiores danos às paredes dos canais, os meios químicos para desinfecção são mais indicados, como uso de irrigantes e medicações intracanais^{7,8}.

O hipoclorito de sódio em concentração de 2,5% a 6% é o principal irrigante utilizado para a descontaminação durante o tratamento endodôntico regenerativo^{7,8}. Como principal meio de descontaminação, a irrigação deve ser abundante, porém minuciosa uma vez que em dentes permanentes jovens há maior risco de extravasamento de irrigantes podendo causar acidentes e comprometer a viabilidade das células tronco da papila apical interferir no sucesso da terapia⁹.

Técnicas que utilizam pressão negativa podem ser mais eficazes e seguras ao realizar a aspiração de irrigantes em dentes imaturos^{10,11}. Novos dispositivos de irrigação com pressão negativa têm sido lançados no mercado, sendo necessários novos estudos para avaliar a extrusão de irrigantes destes dispositivos. O equipamento de pressão negativa EndoVac (Discus Dental, Culver City, CA, USA) se destaca nos estudos anteriores por resultar em pouca extrusão quando comparado a outros métodos, como o Self-Adjusting File - SAF (ReDent-Nova, Ra'anana, Israel) e o sistema de agitação sônico - EDDY (VDW, Munich, Germany), por exemplo¹². O recente sistema e ainda não estudado o PulpSucker (PlanB Dental Engineering, CA, USA), é um dispositivo de irrigação por pressão negativa multicameral e opera por meio de um sistema fechado, criando pressões de irrigação negativas na câmara pulpar. O sistema Ivac (Pac-Dent, Endeavor Circle Brea, CA, USA), lançado recentemente, combina a aspiração em pressão negativa com vibração ultrassônica e injeção contínua de irrigante, promovendo a agitação concomitantemente a irrigação e aspiração.

O objetivo deste estudo é avaliar o extravasamento apical de irrigantes em dentes imaturos simulados, comparando a irrigação convencional com outros dispositivos de irrigação por pressão negativa. A hipótese de nulidade é de que a técnica de irrigação não influencia na extrusão apical de irrigantes em dentes imaturos simulados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cálculo amostral

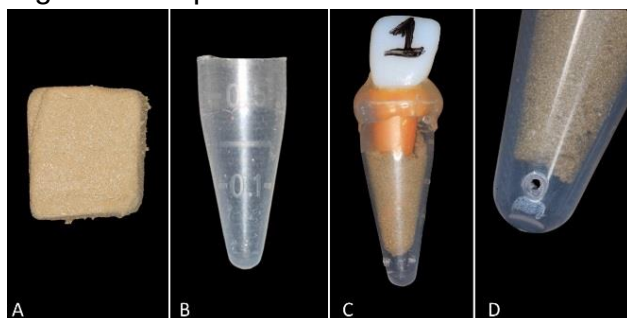
Um cálculo do tamanho da amostra foi realizado usando o software G*Power¹³ (Faul, Erdfelder, Lang, & Buchner, 2007), com base nos dados de um estudo piloto. Um teste bilateral para amostras independentes, adotando um nível de significância de 0,05% e poder de teste de 0,85 resultou em um tamanho de 48 amostras.

Preparo da amostra

Uma amostra de 48 incisivos centrais superiores simulados (IM do Brasil, São Paulo, Brazil) foram acessados utilizando pontas diamantadas esféricas (KG Sorensen, São Paulo, Brazil) e removida a cera do interior dos condutos utilizando limas manuais tipo K #80 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland). Todos os dentes foram padronizados em 21mm, confirmado visualmente em cada amostra com lima tipo K #10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) e régua milimetrada (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland).

Adaptando o modelo experimental utilizado por Myers e Montgomery¹⁴, frascos do tipo Eppendorf de 2ml foram preenchidos com espuma floral e as amostras fixadas com adesivo termoplástico. Para que a pressão no meio interno estivesse equalizada, foram realizados orifícios na lateral do frasco (Figura 1).

Figura 1. Preparo da amostra.



Legenda:

- (A) Espuma floral.
- (B) Eppendorf.
- (C) Fixação do dente simulado.
- (D) Detalhe do orifício para equilíbrio da pressão no interior do Eppendorf.

As amostras foram divididas em 4 grupos (n=12) de acordo com o dispositivo de irrigação utilizado: Grupo Irrigação Convencional (IC), Grupo EndoVac (EV), Grupo Pulp Sucker (PS) e Grupo Ivac (IV).

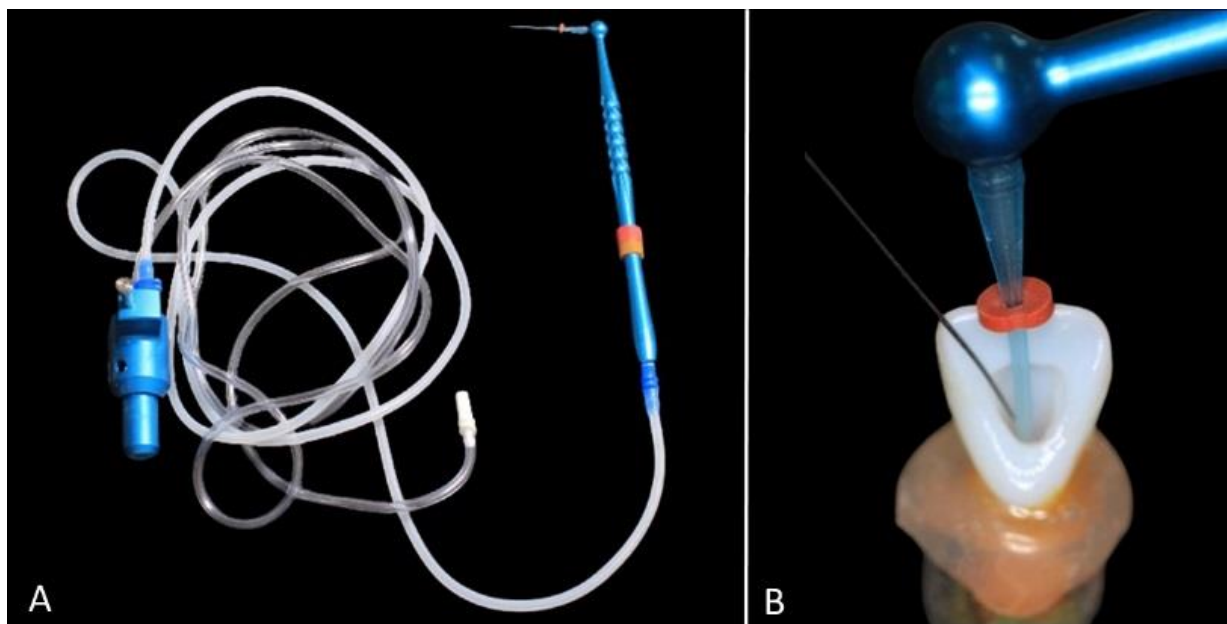
Irrigação dos canais

Em todos os grupos foram utilizados 15ml de irrigantes, sendo 10ml de hipoclorito de sódio 2,5% intercalados com 5ml de EDTA 17% (Fórmula & Ação, São Paulo, Brasil) em seringas de 5ml (Ultradent, South Jordan, UT, EUA).

Grupo IC: O protocolo de irrigação foi realizado utilizando uma agulha de irrigação Navitip (Ultradent, South Jordan, UT, EUA), que foi posicionada 2mm aquém do comprimento de trabalho, e cânula de aspiração do tipo White Mac (Ultradent, South Jordan, UT, EUA) na câmara pulpar. Os irrigantes foram administrados a cada 5ml durante um período de 60 segundos.

Grupo EV: A macrocânula foi posicionada 3mm aquém do comprimento de trabalho e a cânula de irrigação foi posicionada na câmara pulpar (Figura 2). Os irrigantes foram administrados lentamente, cada 5ml de solução foi irrigado durante um período de 60 segundos.

Figura 2. Sistema Endovac.



Legenda:

(A) Componentes do Sistema Endovac.

(B) Utilização do sistema Endovac, macrocânula ajustada e agulha de irrigação na câmara pulpar.

Grupo PS: A microcânula do sistema foi posicionada 3mm aquém do comprimento de trabalho, então o conjunto de acoplamento de dentes anteriores foi posicionado e vedado com um polímero fotopolimerizável disponibilizado no kit (Figura 3). Lentamente os irrigantes foram então administrados, cada 5ml de solução foi irrigado durante um período de 60 segundos.

Figura 3. Sistema PulpSucker

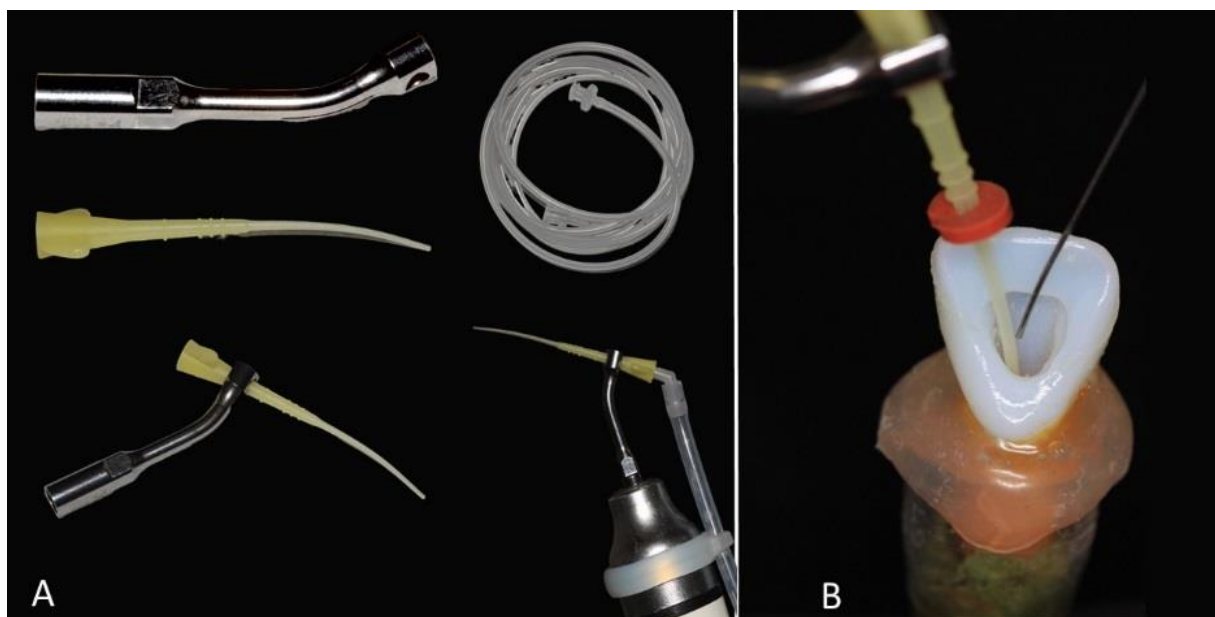


Legenda:

- (A) Componentes do Sistema PulpSucker.
- (B) Embalagem.
- (C) EDTA e Clorexidina.
- (D) VacuSeal.
- (E) Seringa tipo Luer.
- (F) Bolsa de NaOCl 8%.
- (G) Cânulas de irrigação.
- (H) Conjunto para montagem e placa para acoplar ao elemento.
- (I) Utilização do sistema na amostra.

Grupo IV: A ponta de aspiração foi acoplada a um ultrassom piezo elétrico (UltrawaveXS, Ultradent, South Jordan, UT, EUA), posicionada 3mm aquém do comprimento de trabalho e acionada em potência de 15%. Os irrigantes foram então administrados na câmara pulpar utilizando uma agulha de irrigação Navitip (Ultradent, South Jordan, UT, EUA). Cada 5ml foi irrigado durante um período de 60 segundos (Figura 4).

Figura 4. Sistema iVac.



Legenda:

(A) Componentes do Sistema Ivac.

(B) Utilização do sistema na amostra.

Avaliação da extrusão

Os canais radiculares foram aspirados e então as amostras foram pesadas em balança de precisão (Mettler-Toledo, Greifensee, Switzerland) antes e após os protocolos de irrigação realizados em cada grupo. A diferença entre o peso antes e após a aplicação dos protocolos de irrigação foi considerada como o volume de solução química extravasada.

Análise estatística

Os dados foram coletados e analisados estatisticamente utilizando o software Jamovi 1.6. Devido a distribuição não normal e à não homogeneidade das variâncias, o teste de Kruskal-wallis e comparações múltiplas de Dwass-Steel-Critchlow-Fligner foi utilizado, adotando um nível de significância de 5%. O teste exato de Fisher foi utilizado para associação entre os grupos e a presença ou ausência de extrusão de irrigantes.

RESULTADOS

Em todos os grupos analisados ocorreu algum nível de extravasamento de irrigante. De modo geral, os grupos que utilizaram pressão negativa obtiveram

melhores resultados ($p < 0,05$) (Tabela 1). Os grupos EV, PS e IV se comportaram de forma semelhante quanto ao volume de irrigante extravasado, não havendo diferenças significativas entre si ($p > 0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1. Medianas e valores mínimos e máximos do peso de soluções irrigadoras extravasadas em cada um dos grupos.

Grupo	Extrusão de irrigante (mg)
	Mediana (Mín-Máx)
Irrigação Convencional	0.1760 (0.0809-0.5440) ^a
Ivac	0.0429 (0.0000-0.2160) ^b
Endovac	0.0049 (0.0000-0.0710) ^b
Pulp Sucker	0.0000 (0.0000-0.2300) ^b

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças entre os grupos estudados.

Todas as amostras do grupo IC apresentaram extrusão de irrigante (100%), enquanto no grupo PS apenas 5 das amostras apresentam extrusão (41,7%). O teste exato de Fisher mostrou diferenças significativas na associação entre os grupos e a extrusão de irrigante ($p < 0,005$) (Tabela 2).

Tabela 2. Tabela de contingência para associação entre os grupos e a presença ou ausência de extrusão de soluções irrigadoras.

Extrusão de Irrigante	Grupo								Total	p- value	
	Irrigação		Ivac		Endovac		Pulp Sucker				
	Manual										
	n	%	n	%	n	%	n	%			
Sim	12	100,0	11	91,6	10	83,3	5	41,7	38	79,2	0,0042
Não	0	0,00	1	8,4	2	6,7	7	58,3	10	20,8	
Total	12	100,0	12	100,0	12	100,0	12	100,0	48	100,0	

DISCUSSÃO

A reparação de tecidos depende da ausência de contaminação, fator decisivo para o sucesso do tratamento. Estudos propõem o uso de pastas antibióticas para descontaminação do conduto e uso de MTA para manter uma barreira física no intuito proteger o *scaffold* contra novas infiltrações bacterianas via coronal^{6,15}.

Por estarem localizadas muito próximas da região apical¹⁶, as células-tronco da papila apical podem ser afetadas por extravasamento accidental de irrigante⁹. Diminuir o risco de extrusão de irrigantes é importante durante a terapia endodôntica regenerativa, uma vez que a manutenção da viabilidade das células-tronco da papila apical está diretamente relacionada a uma maior segurança na irrigação dos canais radiculares em dentes imaturos^{8,17}.

Para maximizar os efeitos da irrigação, dispositivos que utilizam pressão negativa foram lançados no mercado para executar esta etapa com eficiência e segurança. Estudos anteriores mostraram que o sistema EndoVac resultou em menor extrusão e reação inflamatória dos tecidos adjacentes quando comparado à irrigação convencional com agulha^{10,18–20}. O sistema Endovac assim, como os demais sistemas de irrigação por pressão negativa, promoveu significativamente menor extravasamento de irrigante quando comparado à irrigação manual, corroborando com estes estudos previamente realizados.

O modelo utilizado no presente estudo foi uma modificação do modelo utilizado por Myers e Montgomery¹⁴, adaptando materiais de acordo com estudos anteriores²¹. Embora outros métodos mais refinados simulem a pressão exercida pelos tecidos periapicais²², o presente estudo utilizou uma esponja floral para este fim, simulando um anteparo promovido pelos tecidos periapicais. Outros estudos utilizaram a mesma estratégia^{19,23}. O uso de dentes simulados favorece a padronização de tamanho e diâmetro apical das amostras, evitando interferências em razão da anatomia interna.

Os resultados do presente estudo mostraram que houve extrusão de irrigantes em todos os grupos, porém os grupos EV, PS e IV extravasaram significativamente menos irrigante quando comparados à irrigação manual. Uma estratégia para as limitações da irrigação convencional é a irrigação por pressão negativa, no qual o irrigante é depositado na câmara pulpar e puxado para o comprimento de trabalho por sucção por uma cânula, mantendo assim um constante reabastecimento de irrigante²⁴.

Os resultados encontrados corroboram com outros estudos, mostrando que os sistemas que utilizam irrigação com pressão negativa são mais seguros e eficientes para a irrigação em dentes imaturos^{10,11,25}.

Este foi o primeiro estudo que avaliou a extrusão de irrigantes em dentes imaturos com o sistema PulpSucker, que apresentou significativamente menor número de amostras com extrusão de irrigante. Para manter padronizado o volume de irrigante em 15mL em todos os grupos por questões metodológicas, o protocolo de irrigação utilizado foi diferente do recomendado pelo fabricante, que recomenda a utilização de 40mL de irrigante. O Sistema PulpSucker é um aparato de irrigação por pressão negativa fechado, no qual o irrigante flui pela extremidade da cânula irrigadora colocada individualmente em cada canal de forma independente através do sistema de vácuo da cadeira odontológica. O sistema fechado é criado por estabelecer uma vedação hermética entre o aparato e o dente, por meio de uma barreira fotopolimerizável. Acreditamos que o sistema fechado utilizado por esse dispositivo pode ter contribuído para os bons resultados encontrados. Outro sistema fechado de irrigação também mostrou bons resultados na extrusão apical de irrigante²², porém as amostras utilizadas não eram de dentes imaturos.

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que o sistema Ivac teve significativamente menos extrusão de irrigante quando comparado à irrigação convencional ($p < 0,05$). Por associar a vibração ultrassônica, este sistema pode ser interessante de ser utilizado, pois pode potencializar a limpeza e descontaminação do canal radicular²⁶. Embora estudos mostrem que a ativação ultrassônica pode aumentar a extrusão de irrigantes²⁷, acreditamos que a associação da pressão negativa juntamente com a ativação ultrassônica pode ter sido a razão dos bons resultados deste dispositivo. Sendo assim, este dispositivo mostrou-se bastante promissor uma vez que utiliza a ativação ultrassônica, a irrigação com pressão negativa e a irrigação contínua em um único dispositivo. Estudos que avaliem a limpeza e descontaminação do sistema de canais radiculares são necessários para comprovar a efetividade deste dispositivo nestes aspectos.

O sucesso da terapia endodôntica regenerativa depende não somente da viabilidade das células-tronco da papila apical, mas também da presença de fatores de crescimento, um *scaffold* que servirá de arcabouço para esses elementos e também a ausência de contaminação do sistema de canais radiculares. A

permanência de infecção é uma das principais causas de insucesso nestes casos^{28,29}. Esta descontaminação está diretamente relacionada à eficiência da irrigação, uma vez que não é indicada a modelagem dos canais radiculares em dentes imaturos³⁰. Portanto outras estratégias que maximizem a descontaminação são necessárias para alcançar o sucesso da terapia endodôntica regenerativa.

CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada e dentro das limitações do presente estudo, rejeitou-se a hipótese de nulidade, uma vez que a irrigação convencional promoveu significativamente maior volume de extrusão de irrigante quando comparada aos dispositivos de irrigação por pressão negativa. Dentre estes, o sistema PulpSucker teve melhores resultados, uma vez que mostrou extravasamento de irrigante em um número significativamente menor de amostras.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. Sjögren U, Hägglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. J Endod [Internet]. 1990 [cited 2023 July 14];16(10):498-504. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2084204/>.
2. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. J Endod [Internet]. 2010 Aug [cited 2019 June 10];36(8):1277-88. Available from: <http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20647081>.
3. Rodrigues RCV, Zandi H, Kristoffersen AK, Enersen M, Mdala I, Ørstavik D, et al. Influence of the apical preparation size and the irrigant type on bacterial reduction in root canal-treated teeth with apical periodontitis. J Endod [Internet]. 2017 July 1 [cited 2021 Dec 6];43(7):1058–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28483164/>.
4. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. Dent Traumatol. 2002 [cited 2023 July 28];18(3):134–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12110105/>.
5. Cvek M. Prognosis of luxated non-vital maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with gutta-percha. A retrospective clinical study. Dent Traumatol [Internet]. 1992 Apr 1 [cited 2023 June 14];8(2):45–55. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1600-9657.1992.tb00228.x>.
6. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with

- apical periodontitis: new treatment protocol? J Endod [Internet]. 2004 [cited 2023 June 10];30(4):196–200. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15085044/>.
7. Galler KM, Krastl G, Simon S, Van Gorp G, Meschi N, Vahedi B, et al. European society of endodontology position statement: revitalization procedures. Int Endod J [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2023 June 14];49(8):717–23. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/iej.12629>.
 8. Wei X, Yang M, Yue L, Huang D, Zhou X, Wang X, et al. Expert consensus on regenerative endodontic procedures. Int J Oral Sci [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2023 June 14];14(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36450715/>.
 9. Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, Perry G, Dybdal-Hargreaves N, Hargreaves KM, et al. Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. J Endod [Internet]. 2011 Aug [cited 2023 June 14];37(8):1109–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21763903/>.
 10. Velmurugan N, Sooriaprakas C, Jain P. Apical extrusion of irrigants in immature permanent teeth by using endovac and needle irrigation: an in vitro study. J Dent (Tehran) [Internet]. 2014 [cited 2022 Apr 22];11(4):433. Available from: <https://www.scielo.br/j/jaos/a/JHzTR58C8c9frfDNqyZ9VXS/?lang=en>.
 11. Jamleh A, Fukumoto Y, Takatomo Y, Kobayashi C, Suda H, Adorno CG. A comparison between two negative pressure irrigation techniques in simulated immature tooth: an ex vivo study. Clin Oral Investig [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2023 June 14];20(1):125–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25963721/>.
 12. Magni E, Jäggi M, Eggmann F, Weiger R, Connert T. Apical pressures generated by several canal irrigation methods: a laboratory study in a maxillary central incisor with an open apex. Int Endod J [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2022 Apr 26];54(10):1937–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34022070/>.
 13. Erdfelder E, Paul F, Buchner A, Lang AG. Statistical power analyses using G*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. Behav Res Methods. 2009 [cited 2022 Aug 1];41(4):1149–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19897823/>.
 14. Myers GL, Montgomery S. A comparison of weights of debris extruded apically by conventional filing and Canal Master techniques. J Endod [Internet]. 1991 [cited 2022 May 2];17(6):275–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1940753/>.
 15. Wang HJ, Chen YHM, Chen KL. Conservative treatment of immature teeth with apical periodontitis using triple antibiotic paste disinfection. J Dent Sci [Internet]. 2016 June 1 [cited 2022 July 19];11(2):196–201. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30894971/>.
 16. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. J Endod [Internet]. 2011 Feb [cited 23 June 16];37(2):133–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21238791/>.
 17. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human

- immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod* [Internet]. 2008 Feb [cited 2023 June 16];34(2):166–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18215674/>.
18. Mitchell RP, Yang SE, Baumgartner JC. Comparison of apical extrusion of NaOCl using the endovac or needle irrigation of root canals. *J Endod* [Internet]. 2010 [cited 2022 May 23];36(2):338–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.10.003>.
19. Sharma R, Kumar V, Logani A, Chawla A, Sharma S, Koli B. Effect of gravity on periapical extrusion of irrigating solution with different irrigation protocols in immature anterior teeth. *Eur Endod J*. 2020 [cited 2022 May 23];5(2):150–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32766527/>.
20. Desai P, Himel V. Comparative safety of various intracanal irrigation systems. *J Endod* [Internet]. 2009 Apr [cited 2023 July 4];35(4):545–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19345802/>.
21. Fairbourn DR, McWalter GM, Montgomery S. The effect of four preparation techniques on the amount of apically extruded debris. *J Endod* [Internet]. 1987 [cited 2022 May 2];13(3):102–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3471831/>.
22. Charara K, Friedman S, Sherman A, Kishen A, Malkhassian G, Khakpour M, et al. Assessment of apical extrusion during root canal irrigation with the novel gentlewave system in a simulated apical environment. *J Endod*. 2016 [cited 2023 July 14];42(1):135–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26547720/>.
23. Hachmeister DR, Schindler WG, Walker WA, Thomas DD. The sealing ability and retention characteristics of mineral trioxide aggregate in a model of apexification. *J Endod*. 2002 [cited 2023 Feb 21];28(5):386–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12033201/>.
24. Fukumoto Y, Kikuchi I, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. An ex vivo evaluation of a new root canal irrigation technique with intracanal aspiration. *Int Endod J* [Internet]. 2006 Feb [cited 2023 Apr 8];39(2):93–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16454788/>.
25. Cohenca N, Heilborn C, Johnson JD, Flores DSH, Ito IY, da Silva LAB. Apical negative pressure irrigation versus conventional irrigation plus triantibiotic intracanal dressing on root canal disinfection in dog teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2023 July 17];109(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20123368/>.
26. Nakamura VC, Pinheiro ET, Prado LC, Silveira AC, Carvalho APL, Mayer MPA, et al. Effect of ultrasonic activation on the reduction of bacteria and endotoxins in root canals: a randomized clinical trial. *Int Endod J* [Internet]. 2018 Jan [cited 2019 May 9];51:e12–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28439928>.
27. Gupta J, Nikhil V, Jha P. Corelation between machines assisted endodontic irrigant agitation and apical extrusion of debris and irrigant: a laboratory study. *Sci World J*. 2014 Oct 16 [cited 2023 Feb 21]; 346184. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25386593/>.
28. Brizuela C, Huang GTJ, Diogenes A, Botero T, Khoury M. The four pillars for successful regenerative therapy in endodontics: stem cells, biomaterials, growth factors, and their synergistic interactions. *Stem Cells Int* [Internet]. 2022 [cited 2023 July 17];2022. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36193253/>.

29. Verma P, Nosrat A, Kim JR, Price JB, Wang P, Bair E, et al. Effect of residual bacteria on the outcome of pulp regeneration in vivo. J Dent Res [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2023 July 17];96(1):100–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27694153/>.
30. Cohen S, Burns R, Keiser K. Pathways of the pulp. 1998 [cited 2023 May 22]. Available from: https://www.uacj.mx/icb/dest/documentos/est0015-endodoncia_i.pdf.