

**Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais**

Departamento de Odontologia

**ADAPTAÇÃO APICAL DO MTA EM MODELO  
EXPERIMENTAL DE RIZOGÊNESE INCOMPLETA EM FUNÇÃO  
DO MODO DE APLICAÇÃO E REMOÇÃO DA *SMEAR LAYER*:  
ANÁLISE EM MEV.**

**ANA CRISTINA CARVALHO DE ARAÚJO**

**Belo Horizonte**

**2010**

Ana Cristina Carvalho de Araújo

ADAPTAÇÃO APICAL DO MTA EM MODELO  
EXPERIMENTAL DE RIZOGÊNESE INCOMPLETA EM FUNÇÃO  
DO MODO DE APLICAÇÃO E REMOÇÃO DA *SMEAR LAYER*:  
ANÁLISE EM MEV.

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Clínicas Odontológicas com ênfase em Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Frank Ferreira Silveira

**Belo Horizonte**

**2010**

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

A658a Araújo, Ana Cristina Carvalho de  
Adaptação apical do MTA em modelo experimental de rizogênese incompleta em função do modo de aplicação e remoção da *smear layer*: análise em MEV. / Ana Cristina Carvalho de Araújo. Belo Horizonte, 2010.  
51f.: il.

Orientador: Frank Ferreira Silveira  
Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

1. Microscopia eletrônica de varredura. I. Silveira, Frank Ferreira. II. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDU: 616.314

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais José Agapito e Ana Maria,

Ao meu irmão Frederico e ao Ricardo

Que tanto se esforçaram e me apoiaram

Para que eu pudesse atingir meus objetivos.

É com imenso orgulho que dedico a vocês mais esta conquista.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao professor e orientador Frank Ferreira Silveira, por toda a paciência e gentileza ao longo destes anos, por compreender minhas dificuldades e me ensinar a superá-las.

À professora Ana Maria Abras da Fonseca, pelo apoio, confiança e amizade.

Aos professores Eduardo Nunes e Maria Ilma de Souza Gruppioni Côrtes, pelos ensinamentos e incentivo diários. Vocês contribuíram imensamente para meu crescimento profissional.

Aos colegas e amigos do Mestrado, em especial à Kênia Toubes, pelo companheirismo e disponibilidade. A convivência com todos vocês tornou mais leve a tarefa!

Às secretárias da Pós-graduação Angélica e Silvânia e a todos os funcionários da Faculdade de Odontologia da PUC Minas, por estarem sempre prontos para ajudar.

E a todos que não foram citados aqui, mas que, de uma forma ou de outra, auxiliaram em toda a caminhada e na realização deste sonho, muito obrigada!

*"A vida é uma peça de teatro que não permite ensaios.  
Por isso, cante, chore, dance, ria e viva intensamente,  
antes que a cortina se feche e a peça termine sem aplausos".*

***Charles Chaplin***

## RESUMO

O MTA tem sido utilizado em procedimentos de apicificação, trazendo benefícios em relação ao tempo total do tratamento quando comparado ao uso do hidróxido de cálcio, embora apresente dificuldades na sua adaptação e no controle de extrusão. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a adaptação apical quando da utilização do MTA como *plug* apical em modelo experimental, simulando rizogênese incompleta através da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram utilizados 18 dentes unirradiculados extraídos de humanos, divididos em quatro grupos experimentais (n=4) e um controle (n=2). Os dentes foram padronizados com o comprimento radicular em 10 mm, através da remoção da porção coronária e de 3 mm da porção apical. Ápices abertos foram padronizados através do uso de brocas Gates Glidden de números 6 a 1 por via ortógrada, sendo a última utilizada de modo a ultrapassar o forame apical. Em seguida, com o objetivo de se criar paredes apicais divergentes, realizou-se o retropreparo com auxílio de uma lima Profile # 40 conicidade 0.06 (D 16= 1,36 mm) inserida no comprimento total de sua parte ativa. Todos os dentes foram submetidos à irrigação com hipoclorito de sódio 5,25% durante os procedimentos de preparo. Após a fixação dos dentes em espuma umedecida, realizou-se o preenchimento de acordo com o grupo experimental. No grupo I, os dentes foram preenchidos apicalmente com MTA branco; no grupo II, o preenchimento foi realizado com MTA seguido da vibração ultrassônica passiva por 5 segundos; no grupo III, da mesma maneira do grupo I, precedido pela remoção da *smear layer* com EDTA 17% e no grupo IV, semelhante ao grupo II com remoção prévia da *smear layer* com EDTA 17%. No grupo controle, os dentes foram obturados com guta-percha termoplastificada e o preenchimento apical com MTA realizado por via retrógrada. As amostras foram analisadas ao MEV, com aumento de 1000X, para a medição de possíveis *gaps* entre MTA e as paredes dentinárias. As medidas foram tomadas em 12 pontos previamente determinados, sendo repetidos em todos os espécimes, perfazendo 48 pontos para cada grupo experimental. Os dados obtidos foram avaliados estatisticamente através do teste ANOVA. O grupo IV apresentou os menores valores de *gaps* quando comparado aos demais ( $p < 0.005$ ); não houve diferença estatística entre os grupos I, II e III. A técnica de inserção do MTA utilizando-se da vibração ultrassônica passiva associada à remoção da *smear layer* favoreceu a adaptação marginal do material.

**Palavras-chave:** Apicificação. Microscopia eletrônica de varredura. MTA. *Smear layer*.

## ABSTRACT

The one-visit MTA apexification has the advantage of reducing the long-term calcium hydroxide treatment despite of difficulties on adaptation and extrusion control. The aim of this study was to evaluate the marginal adaptation of MTA as an apical barrier using an *in vitro* apexification model. Eighteen single-rooted human teeth were used. To standardize root length, the crowns were sectioned and three millimeters of each root tip were removed. An artificial open apex was created in the teeth using Gates Glidden drills numbers 6-1 in a crown-down manner until the size 1 bur passed through the foramen. A divergent open apex was prepared to a size of 1,36 mm at the foramen by retrograde apical transportation using a number 40 Profile 0.6 taper instrument inserted to the length of the cutting blade. The teeth were irrigated with 5,25% NaOCl. Eight teeth were also irrigated with 17% EDTA, followed by NaOCl to remove the smear layer. The teeth were divided into four groups (n = 4) and a further 2 teeth served as controls. Group I: MTA was placed as an apical barrier at a thickness of 5 mm without the removal of the smear layer; group II: MTA was placed with indirect ultrasonic activation; group III: the apical plug was placed after the removal of the smear layer without indirect ultrasonic activation and group IV: similar to group II with the previous removal of the smear layer. Each root was mounted on an aluminum stub and sputter-coated with gold for SEM examination. The distances between the MTA and cavity walls were measured at 12 predetermined points of the material/dentin interface (1000X). The ANOVA test was applied to the marginal adaptation data to detect differences between the experimental groups. Group IV had the lowest gap when compared to the others ( $p < 0.005$ ) and there was no statistical difference between groups I, II and III. The technique of insertion of the MTA using passive ultrasonic vibration associated with the removal of the smear layer improved the marginal adaptation of the material.

**Key-words:** Apexification. MTA. Scanning electron microscopy. Smear layer.

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

EDTA	Ácido etileno-diamino-tetracético
IRM	Material Restaurador Intermediário
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MTA	Mineral Trioxide Aggregated (Agregado de trióxido mineral)
NaOCl	Hipoclorito de sódio
PBS	Phosphate-buffered saline (tampão fosfato-salino)
PMMA	Polimetilmetacrilato
SCR	Sistema de Canais Radiculares
Super EBA	Super Ácido Etoxibenzóico
g	grama
G	gauge
mL	mililitro
mm	milímetro
μm	micrometro
pH	potencial hidrogeniônico
X	vezes
#	número
%	percentagem
°C	grau Celsius

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 Plug apical de MTA em dentes com rizogênese incompleta.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2 Smear layer.....</b>	<b>21</b>
<b>2.3 MEV.....</b>	<b>22</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 Objetivo Específico.....</b>	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS GERAIS.....</b>	<b>27</b>
<b>APÊNDICE- ARTIGO.....</b>	<b>30</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>49</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico tem por objetivos básicos limpar e formatar o sistema de canais radiculares (SCR) e realizar a obturação tridimensional. Uma obturação adequada deve proporcionar vedamento hermético, impedir reinfecção e favorecer o processo biológico de reparo dos tecidos periapicais (SCHILDER, 1967; SCHILDER, 1974; DE DEUS, 1992).

No caso de dentes que apresentam rizogênese incompleta, a obturação do SCR torna-se um desafio. As dificuldades residem nas seguintes condições: maior largura do canal na porção apical da raiz se comparada à porção cervical, dificuldade para se estabelecer precisamente o comprimento de trabalho, ausência de constrição apical e propensão à fratura atribuída às finas paredes dentinárias (BORBA; FACHIN, 2001).

A apicificação é um método de indução do fechamento apical através da formação de tecido mineralizado na região apical de dente não vital com formação radicular incompleta. A indução desse fechamento é usualmente realizada utilizando uma pasta de hidróxido de cálcio e um veículo fisiológico (MORSE; O'LARNIC; YESILSOY, 1990), sendo necessárias trocas sucessivas até que a formação da barreira apical seja concluída.

O tempo total do tratamento com hidróxido de cálcio pode variar de seis meses a dois anos. Esta variação se dá em função do estágio do desenvolvimento radicular e da presença ou ausência de infecção (FRANK, 1966; HEITHERSAY, 1975).

A apicificação em sessão única consiste na condensação não-cirúrgica de material biocompatível no interior da porção apical do canal radicular como tentativa para se estabelecer uma barreira apical que permita o preenchimento imediato do sistema de canais radiculares e restauração permanente do elemento dental envolvido (MORSE; O'LARNIC; YESILSOY, 1990).

O material atualmente utilizado nesta técnica de apicificação é o *Mineral Trioxide Aggregate* (MTA). Boa capacidade de vedamento, habilidade de atuar na presença de umidade e biocompatibilidade são características que fazem do MTA um material promissor na prática endodôntica e estendem suas aplicações clínicas (WITHERSPOON *et al.*, 2008).

O tratamento de dentes com formação radicular incompleta com MTA pode trazer benefícios tanto ao paciente quanto ao profissional. A redução do tempo requerido ao tratamento, melhor cooperação e motivação do paciente e possível eliminação de problemas que surgem ao longo de tratamentos extensos, como dificuldade de manutenção de selamento provisório adequado e integridade do remanescente dentário, tornam a apicificação com MTA

uma alternativa no tratamento de elementos dentários com rizogênese incompleta (MARTIN *et al.*, 2007). Entretanto, dificuldades técnicas para aplicação do material podem interferir na sua adaptação bem como no controle de sua extrusão.

A *smear layer*, definida como uma camada amorfa, irregular e granular observada ao microscópio eletrônico de varredura (MEV), resulta dos procedimentos de limpeza e formatação do sistema de canais radiculares (MADER; BAUMGARTNER; PETERS, 1984). Por ser constituída por substâncias orgânicas e inorgânicas, torna-se necessário o uso de soluções combinadas para sua efetiva remoção. A utilização de um solvente de tecido orgânico como o hipoclorito de sódio (NaOCl) intercalado com um agente quelante como o ácido etileno-diamino-tetracético 17% (EDTA), remove tanto debris superficiais quanto a *smear layer*, o que não ocorre com a utilização isolada de uma das soluções irrigadoras (YAMADA *et al.*, 1983). A influência da remoção dessa camada no selamento apical do MTA ainda é controversa, não havendo consenso na literatura a esse respeito (YILDIRIM; ORUÇOGLU; ÇOBANKARA, 2008).

A utilização da microscopia eletrônica de varredura ao longo dos anos vem sendo importante, principalmente na avaliação da adaptação marginal de materiais retrobturadores (TORABINEJAD *et al.*, 1995; FIGUEIREDO *et al.*, 2008; BADR, 2010), da adaptação de barreiras apicais em casos de rizogênese incompleta (BIDAR *et al.*, 2010) e da microestrutura do material obturador (SAGHIRI *et al.*, 2009).

## 2 CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 2.1 *Plug apical de MTA em dentes com rizogênese incompleta*

O Agregado de Trióxido Mineral (MTA) surgiu no início dos anos 90, como um material experimental desenvolvido pelo Professor Mahmoud Torabinejad na Universidade de Loma Linda na Califórnia, Estados Unidos, com o objetivo de selar as comunicações existentes entre o sistema de canais radiculares e a superfície externa do dente. Em 1993, Lee, Monsef e Torabinejad publicaram o primeiro trabalho científico referente ao uso deste material. Neste trabalho, os pesquisadores compararam os materiais MTA, IRM e amálgama de prata aplicados em modelos experimentais de perfuração radicular lateral em 50 molares superiores e inferiores extraídos. A perfuração foi criada na superfície mesial da raiz em um ângulo de 45 graus em relação ao longo eixo do dente. Após o preenchimento das perfurações, os dentes foram mantidos em ambiente úmido por quatro semanas. As análises foram realizadas com auxílio de microscopia óptica, após imersão das amostras em corante azul de metileno por 48 horas. De acordo com os resultados obtidos, os dentes tratados com MTA revelaram os menores índices de infiltração marginal se comparados aos demais materiais empregados.

O MTA se apresenta como um pó de finas partículas hidrofílicas que endurecem na presença de umidade tornando-se uma estrutura rígida. Deve ser mantido em ambiente protegido de luz e umidade e preparado no momento do seu uso: misturado com água destilada na proporção de 3:1. É composto basicamente por silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido tricálcico e óxido de silicato, além de pequenas quantidades de outros óxidos minerais e da adição do óxido de bismuto, para conferir radiopacidade ao material. Características como capacidade de vedamento, habilidade de atuar na presença de umidade e biocompatibilidade fazem do MTA um material de ampla possibilidade de utilização na Odontologia. Dentre suas indicações estão: capeamento pulpar em casos de exposição acidental, pulpotomia, apicificação, obturação retrógrada em cirurgia parodontológica, tratamento de perfurações radiculares e como barreira intracoronária em casos de clareamento endógeno (TORABINEJAD; CHIVIAN, 1999).

Em 2002, Hachmeister *et al.* realizaram um ensaio clínico com o objetivo de avaliar a eficácia da terapia de apicificação, testando a capacidade de vedamento e as características de retenção do MTA utilizado como barreira apical em um modelo padronizado de ápice aberto.

Os autores testaram as propriedades do material através da variação da espessura do *plug* apical e da necessidade do uso prévio de hidróxido de cálcio. Foram utilizados 146 dentes humanos inferiores unirradiculados neste estudo. Após o preparo da cavidade de acesso e remoção de remanescentes do tecido pulpar, aproximadamente dois milímetros do terço apical foram removidos para eliminar deltas apicais e padronizar a saída do forame no centro da raiz. O comprimento de trabalho foi determinado visualmente pela introdução de uma lima manual através do canal. A instrumentação foi realizada com broca de Peeso # 2 no comprimento previamente estabelecido. A divergência apical foi preparada através de instrumentação retrógrada com lima Profile # 50 e conicidade 0.04, inserida em todo o comprimento de sua parte ativa. Os dentes foram irrigados com solução de NaOCl 5,25%, radiografados e mantidos em solução salina. Para análise da infiltração bacteriana, foram utilizados 74 dentes divididos aleatoriamente em seis grupos experimentais. No grupo 1 (n=14), o MTA foi aplicado com espessura de 1 mm sem uso prévio de Ca(OH)<sub>2</sub>. No grupo 2 (n=14), os dentes receberam medicação com Ca(OH)<sub>2</sub> antes da aplicação do MTA (1 mm de espessura). Nos dentes do grupo 3 (n=14), a barreira de MTA foi inserida com 4 mm de espessura sem Ca(OH)<sub>2</sub>. No grupo 4 (n=14), foi feita medicação com Ca(OH)<sub>2</sub> previamente ao MTA (espessura de 4 mm). No grupo 5 (n=8), a aplicação foi feita da mesma maneira do grupo 3 porém os dentes não foram submetidos ao processo de esterilização com dióxido de etileno. Nos dentes do grupo 6 (n=10), o preenchimento com MTA foi feito por via retrógrada. Doze dentes foram utilizados como controle positivo e negativo. Todos os dentes tiveram suas raízes cobertas por duas camadas de esmalte de unha com exceção do ápice para evitar a infiltração bacteriana através da superfície radicular. Os dentes do grupo controle negativo também tiveram seus ápices protegidos pelo esmalte. As amostras foram então submetidas ao teste de infiltração bacteriana, utilizando-se as seguintes espécies: *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus epidermidis*. Para o teste de resistência ao deslocamento da barreira apical foram utilizados 60 dentes divididos aleatoriamente em 2 grupos com e sem aplicação de Ca(OH)<sub>2</sub> e estes redivididos de acordo com a espessura da barreira apical de MTA aplicada (1 e 4 milímetros). Os dentes foram mantidos por 8 dias em ambiente com 100% de umidade à 37°C para permitir a presa do material e então submetidos ao teste de resistência. A força foi aplicada verticalmente no sentido longitudinal da raiz utilizando-se um dispositivo próprio e as medidas foram registradas. Os autores concluíram de acordo com os resultados do estudo que a aplicação de Ca(OH)<sub>2</sub> não interferiu na infiltração bacteriana e na resistência ao deslocamento do *plug* e ainda que remanescentes do material nas paredes do ápice aberto não alteraram as propriedades do MTA. Concluiu-se

também que a variação da espessura do preenchimento apical não alterou a capacidade de vedamento à infiltração bacteriana, porém, esta foi significativamente superior pela aplicação do material por via retrógrada. Desta forma, relacionou-se a técnica de aplicação do MTA a um melhor vedamento e não o material propriamente dito. A barreira apical com 4 mm de espessura foi a que apresentou maior resistência ao deslocamento de acordo com a metodologia empregada.

Lawley *et al.* (2004) realizaram um estudo *in vitro* com o objetivo de testar a hipótese de que uma técnica alternativa de inserção do MTA poderia melhorar a capacidade de selamento em barreiras apicais. Os autores utilizaram um modelo de apicificação e compararam o selamento promovido pelo MTA ao ser inserido e condensado manualmente, por vibração ultrassônica ou por vibração ultrassônica com adição de resina composta intracanal. Sessenta e oito pré-molares unirradiculados e 36 incisivos centrais superiores extraídos de humanos foram utilizados. Para o modelo de apicificação, os 2 mm apicais de cada raiz foram removidos e ápices divergentes foram criados através de um preparo apical retrógrado. Após a limpeza e formatação dos canais, os dentes foram preenchidos com  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  e os dentes armazenados em temperatura ambiente e 100% de umidade por sete dias. Para o estudo de infiltração, 54 pré-molares foram divididos em 3 grupos experimentais. Após a remoção do  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , o MTA foi inserido da seguinte forma: nos grupos 1 e 3, por meio de vibração ultrassônica e no grupo 2 de forma manual, mas em todos os grupos realizou-se a compactação com uso de condensadores manuais. Para o grupo 3, após o período de 7 dias de armazenamento, a porção remanescente do canal foi preenchida com resina composta fluida. Quatorze dentes foram utilizados como controle. Para o controle positivo, seis dentes foram obturados com cone único e sem cimento. Para o controle negativo, oito dentes tiveram as raízes seladas com cera pegajosa e os ápices selados com cera e verniz cavitário. O modelo foi testado quanto à esterilização e posteriormente realizado o estudo de infiltração com o uso de suspensão bacteriana. O grupo controle positivo mostrou infiltração no período de 24 horas, enquanto o grupo controle negativo apresentou ausência de turbidez em 90 dias. Após 45 dias, ocorreu infiltração bacteriana em 33% das amostras no grupo de MTA inserido sem vibração ultrassônica, 11% do grupo de MTA inserido com vibração ultrassônica e em 6% do grupo de MTA inserido com vibração ultrassônica e uso de resina composta. A adição de vibração ultrassônica na inserção do MTA promoveu um selamento significativamente maior da barreira apical em 45 dias. Após 90 dias, somente o grupo de MTA inserido com vibração ultrassônica e uso de resina composta promoveu um selamento maior que o grupo de MTA inserido sem vibração ultrassônica, porém os três grupos não mostraram diferenças

significativas. Os autores também realizaram o teste de resistência à fratura, no qual 36 incisivos superiores foram preparados e divididos em três grupos. Todos os dentes receberam uma barreira apical de 4 mm de MTA inserido com vibração ultrassônica. No grupo 1, nenhum tratamento adicional foi realizado (controle positivo – não restaurado). No grupo 2, cada canal foi submetido a ataque ácido e aplicação de adesivo e resina fluida; no grupo 3, o canal foi obturado com cimento AH Plus e guta-percha termoplastificada utilizando o sistema Obtura II. O selamento coronário nos grupos 2 e 3 foram realizados com resina composta Bisfill II (Bisco). Após o uso de uma máquina universal de teste Instron, os autores observaram que a resistência à fratura do grupo de MTA-resina composta foi significativamente maior que o grupo de MTA-guta-percha e que o grupo controle positivo, mas esses últimos não apresentaram diferenças significativas. Os resultados indicaram que o uso combinado de barreira apical de MTA inserido por vibração ultrassônica e preenchimento do remanescente do canal com resina fluida aumentaram a resistência à fratura, comparado com o método de preenchimento do remanescente do canal com guta-percha e cimento.

Al-Kahtani *et al.* (2005) avaliaram a habilidade de selamento do MTA sob condições específicas. O modelo experimental *in vitro* consistiu de dentes com formação radicular completa, instrumentados de forma a simular raízes imaturas. Cinquenta dentes unirradiculados foram divididos em cinco grupos, que receberam os seguintes tratamentos: grupo 1- *plug* apical de 2 mm de MTA; grupo 2 – *plug* apical de 5 mm de MTA; grupo 3 – *plug* apical de 2 mm de MTA seguido por um segundo incremento de 2 mm realizado após 24 horas; a porção remanescente nos três primeiros grupos permaneceu sem preenchimento; grupo 4 – *plug* apical de 2 mm de MTA e, após 24 horas, preenchimento da porção remanescente com guta-percha e cimento endodôntico; grupo 5- controle positivo, sem receber o *plug*. Para testar a eficácia do selamento apical de MTA foi utilizado um modelo de infiltração bacteriana com cultura de *Actinomyces viscosus*. Os resultados mostraram que somente o grupo em que foi criado um *plug* de 5 mm apresentou diferença estatisticamente significativa comparado com o grupo controle negativo, indicando que, em tal espessura, o *plug* de MTA promoveu selamento adequado.

Felippe, Felipe e Rocha (2006) realizaram um estudo em cães com o objetivo de avaliar a influência do MTA na apicificação e no reparo periapical em dentes com formação radicular incompleta e tecido pulpar previamente contaminado e ainda, verificar a necessidade do uso da pasta de Ca(OH)<sub>2</sub> antes da inserção do MTA. Foram utilizados vinte pré-molares de dois cães com seis meses de idade. Após os procedimentos de abertura coronária e remoção total do tecido pulpar, os sistemas de canais permaneceram expostos ao meio bucal por duas

semanas. O preparo dos canais foi realizado com limas Hedstroem sob irrigação constante com NaOCl 1%, no comprimento de 1 mm aquém do ápice radiográfico. Após a secagem com cones de papel absorvente esterilizados, dois canais de cada cão foram deixados vazios (grupo controle) e os demais dentes de cada animal foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais. No grupo 1, o terço apical do canal radicular foi preenchido com MTA (Pro Root MTA, Dentsply). No grupo 2, os 16 canais foram preenchidos com pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  e propileno-glicol. Após uma semana, a pasta foi removida com solução salina e lima tipo K # 80 e o terço apical foi preenchido com MTA. Todos os dentes foram selados com cimento de óxido de zinco reforçado (IRM) e amálgama. Os animais foram sacrificados após cinco meses e as amostras incluindo dentes e tecidos adjacentes foram preparadas para análise histológica. Sete parâmetros foram utilizados para avaliação: formação de barreira apical mineralizada, nível da formação da barreira, reação inflamatória, reabsorção óssea e radicular, extrusão de MTA e presença de microrganismos. Após análise estatística dos resultados obtidos, os autores concluíram que o MTA aplicado como barreira apical favoreceu a apicificação e o reparo tecidual, independente da aplicação prévia da pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$ . O uso do MTA imediatamente após a limpeza e formatação do sistema de canais radiculares favoreceu o restabelecimento da normalidade do ligamento periodontal e a neoformação óssea e cementária. Concluíram que o MTA apresentou comportamento semelhante ao  $\text{Ca(OH)}_2$ , promoveu desinfecção do canal radicular e estimulou a formação de barreira apical com tecido mineralizado.

Em 2007, Simon *et al.* analisaram a efetividade da técnica de apicificação com MTA através do acompanhamento de 50 pacientes submetidos ao tratamento. Os pacientes foram esclarecidos das possibilidades de tratamento e optaram pelo proposto no estudo. Contra-indicações de ordem médica (doença cardíaca e imunodeficiência severa) e odontológica (dentes que não poderiam ser restaurados ou que apresentassem fratura radicular) foram utilizadas como critérios de exclusão. No total, foram tratados 57 dentes por um único profissional seguindo o mesmo protocolo de atendimento. Após os procedimentos de limpeza e formatação realizados com limas Hedstroem sob irrigação com solução de NaOCl 5%, os canais foram secos com pontas de papel absorvente, preenchidos apicalmente com MTA com espessura de 5 mm e selados provisoriamente com Cavit®. Posteriormente os canais foram obturados pela técnica da compactação vertical da guta-percha aquecida proposta por Schilder e cimento Pulp Canal Sealer. A restauração definitiva foi realizada com resina composta fotopolimerizável. Os pacientes foram reavaliados a cada seis meses nos primeiros dois anos e anualmente a partir desta data. Dois examinadores calibrados avaliaram as radiografias pré-

tratamento, pós-tratamento e de controle em câmara escura com auxílio do recurso da magnificação de acordo com os seguintes critérios: índice periapical (PAI: avalia saúde periapical e processo de reparo), fechamento do forame, presença de barreira apical e tamanho da lesão. Dos 57 casos tratados inicialmente, 43 foram acompanhados durante o prazo mínimo de 12 meses. Considerando o índice periapical (PAI) e a redução no tamanho da lesão, os resultados do trabalho mostraram a ocorrência de cura em 81% dos casos analisados. A presença de ponte dentinária como barreira apical também foi considerada um sinal de sucesso da terapia, neste caso, o índice de cura para o estudo realizado seria de 88%. De acordo com os resultados encontrados, os autores concluíram que a apicificação realizada com MTA pode ser considerada como um tratamento previsível e uma possível alternativa ao uso do  $\text{Ca(OH)}_2$ .

Martin *et al.* (2007) realizaram um estudo *in vitro* com o objetivo de avaliar as características do selamento apical obtido por dois diferentes procedimentos de apicificação com MTA através da técnica de filtragem de fluidos. Foram utilizados nesse experimento 32 dentes anteriores humanos extraídos. As coroas foram seccionadas para se obter raízes com comprimento de 20 mm e então foram removidos 3 mm do ápice radicular. Os procedimentos de abertura coronária, limpeza, formatação e obturação do sistema de canais foram realizados com auxílio de microscopia operatória. A instrumentação foi realizada 2 mm além do ápice radicular utilizando-se brocas Gates-Glidden e instrumentos rotatórios de níquel-titânio # 40 e conicidade 0.06. A padronização da abertura do ápice foi criada através de preparação retrógrada do canal com instrumento rotatório # 40 no comprimento de sua parte ativa (D16; 1,36 mm de diâmetro). Os canais foram irrigados alternadamente com NaOCl 6,15% e EDTA 17%. Cada segmento radicular foi fixado em espuma umedecida para simular a consistência dos tecidos periapicais e então os canais foram secos para que os procedimentos de preenchimento fossem realizados. Os dentes foram divididos em dois grupos experimentais (n=12). No grupo 1, o MTA foi introduzido apicalmente de modo a formar uma barreira de 3 a 5 mm de espessura e o restante do canal foi preenchido com guta percha termoplastificada sem nenhum cimento obturador. No grupo 2, os canais foram completamente preenchidos com MTA em incrementos de 3 mm. Os oito dentes restantes foram utilizados como controle positivo e negativo. Todos os dentes foram restaurados provisoriamente com Cavit® e preparados para o teste de permeabilidade através da filtragem de fluidos utilizando um dispositivo próprio. Os testes foram realizados após 48 horas do preenchimento dos dentes e após quatro semanas de imersão em solução PBS. Os autores concluíram com base nos resultados obtidos que apesar do preenchimento total com MTA ter apresentado melhor

selamento nas primeiras 48 horas, não houve diferença estatisticamente significativa entre os tipos de preenchimento após as quatro semanas de imersão. Segundo os autores, os resultados obtidos através dessa técnica de filtragem não devem ser utilizados para prever o sucesso do procedimento de apicificação com MTA pois apenas representam a adaptação do material nas paredes do canal.

Em 2008, De Deus *et al.* compararam a habilidade de selamento de quatro cimentos utilizados como *plug* apical em dentes com ápices abertos através da análise de movimentação de fluido. Foram utilizados para este estudo 70 incisivos centrais superiores. Ápices artificialmente abertos foram criados através da preparação dos canais com brocas Gates Glidden de números 6 a 1 no sentido coroa-ápice, sendo a broca de número 1 utilizada de maneira a ultrapassar o forame apical. Os canais foram irrigados a cada troca de instrumento com solução de NaOCl 5,25% e secos com cones de papel absorvente. A divergência do preparo apical foi realizada atingindo o diâmetro de 1,24 mm no forame através de instrumentação retrógrada com instrumento rotatório de número 8 (0.60) e conicidade 0.04 (Profile Série 29) inserido em todo o comprimento de sua parte ativa. Os dentes foram aleatoriamente divididos em quatro grupos experimentais (n=15) e dois grupos controles (n=5). No grupo 1, os ápices foram preenchidos com MTA branco da Angelus (WMTA Angelus), acomodado o mais próximo possível do ápice com o auxílio de um porta-MTA específico sob visão microscópica e compactado utilizando os condensadores de Schilder. Nos grupos 2, 3 e 4, foram utilizados respectivamente o MTA Bio™ (Angelus), Pro-Root MTA (Dentsply Tulsa Dental) e cimento Portland tipo IV. O procedimento de preenchimento foi o mesmo descrito para o grupo 1. Nos dentes do grupo controle positivo, não foi realizado nenhum tipo de preenchimento apical; no grupo controle negativo, foram utilizados dentes com coroas íntegras. Os espécimes foram então colocados em uma célula hermética para permitir a avaliação de filtragem do fluido. A infiltração foi medida através da movimentação de uma bolha de ar, realizada após 10 minutos sob pressão constante. Os autores observaram comportamento similar entre os diferentes tipos de cimentos utilizados, verificando movimentação de fluido em todas as amostras; a diferença entre os grupos não foi estatisticamente significativa. Considerando a metodologia aplicada, concluiu-se neste estudo que nenhum cimento foi capaz de produzir uma barreira impermeável à passagem de fluido.

Através de um estudo retrospectivo, Holden *et al.* (2008) avaliaram os resultados clínicos do MTA ProRoot utilizado como barreira apical em dentes com ápices imaturos, analisando se a idade, sexo, tratamento *versus* retratamento, presença pré-operatória de lesões, e diferenças nos tempos de controle influenciavam significativamente nos resultados de

cicatrização. Os pacientes foram submetidos ao tratamento na clínica de endodontia da Universidade de Texas e selecionados com base nos seguintes critérios: (1) um dente com único canal e presença de ápice aberto, (2) tratamento com  $\text{Ca(OH)}_2$  por pelo menos uma semana antes da obturação, (3) uso de MTA para produzir barreira apical artificial, (4) inserção de restauração final, e (5) radiografias documentando as condições pré-tratamento e logo após o tratamento. Os pacientes que preencheram esses critérios foram convidados para um exame de acompanhamento de pelo menos um ano pós-tratamento, quando foram realizadas inspeções clínicas e imagens radiográficas. Todos os pacientes avaliados estavam livres de sinais e sintomas na avaliação de acompanhamento. De acordo com os critérios estabelecidos, 85% (17 de 20) estavam cicatrizados, enquanto 5% (1 de 20) foram considerados como em processo de cicatrização. Dez por cento (2 de 20) não apresentaram sinais de cicatrização. A idade, sexo, tratamento *versus* retratamento, presença de lesão pré-operatória e diferenças nos tempos de controle não tiveram influência significativa nos resultados de cicatrização. Com 85% dos dentes apresentando ausência de patologia periapical e de sinais e sintomas no momento do controle, além de 5% mostrando sinais de processo de cicatrização, a técnica de barreira apical de MTA mostrou-se um método bem sucedido para casos de dentes com necrose pulpar e ápices imaturos. O curto tempo de tratamento reduziu a necessidade de cooperação do paciente e permitiu o reforço coronário por meio de restauração adesiva de forma mais rápida. Os autores ressaltaram a necessidade de estudos adicionais para obter dados de sucesso à longo prazo dessa técnica.

Witherspoon *et al.* (2008) analisaram através de um estudo prospectivo o tratamento não-cirúrgico do ápice aberto obturado com MTA na ausência de barreira apical. Foram acompanhados 116 pacientes, num total de 144 dentes tratados no período de 1999 a 2006. Os tratamentos foram realizados por especialistas seguindo o mesmo protocolo de atendimento. Dos 144 dentes tratados, 92 foram realizados em sessão única e 52 em duas sessões. O critério utilizado foi a presença de exsudação persistente ou reabsorção radicular externa, indicando a necessidade de hidróxido de cálcio como medicação intracanal. A limpeza e formatação dos canais foram realizadas com instrumentos rotatórios e irrigação com NaOCl 6%, seguida pela remoção da *smear layer* com EDTA 17% e NaOCl 6% neutralizado com soro fisiológico para irrigação final com clorexidina 2% previamente a obturação. Nos casos realizados em duas sessões, o preenchimento com a pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  permaneceu por três semanas no interior do sistema de canais. A obturação do terço apical foi realizada em incrementos de 1 mm de espessura com auxílio de porta-MTA específico e condensação ultrassônica do material. Os dentes foram restaurados com resina e então radiografados. Os pacientes foram avaliados pelo

exame clínico e pelo exame radiográfico a cada seis meses e divididos em três categorias: curado, em processo de cura e doença persistente. Os critérios utilizados foram os seguintes: histórico de dor ou desconforto, aspecto radiográfico do ligamento periodontal e lâmina dura, presença de radiolucidez periapical. Dos 144 tratamentos realizados, apenas 78 (47 em sessão única e 31 em duas sessões) foram acompanhados por um período de aproximadamente 20 meses a cinco anos. Considerando os casos tratados em sessão única acompanhados por um ano ou mais, 93,5% apresentaram cura total e 6,5% estavam em processo de cura. Os índices para os tratamentos realizados em duas sessões acompanhados pelo mesmo período foram 90,5% de cura; 4,8% processo de cura em andamento e 4,7% persistência da doença (anquilose). De acordo com os resultados obtidos, os autores concluíram que o MTA representa uma alternativa viável ao uso do hidróxido de cálcio na terapia do ápice aberto.

Kim *et al.* (2009) realizaram um estudo com o objetivo de comparar qualidade do selamento apical do MTA acomodado com auxílio de vibração ultrassônica por via ortógrada como *plug* apical em dentes com ápices abertos. Os autores avaliaram se a utilização da vibração ultrassônica indireta aplicada a um condensador endodôntico poderia melhorar o escoamento, presa e compactação do MTA apicalmente. Foram utilizados 30 incisivos superiores extraídos de humanos. Os modelos experimentais foram instrumentados até lima # 100 no ápice e a barreira apical de MTA com 5 mm de espessura foi introduzida com (grupo A; n=11) ou sem (grupo B; n=11) ativação ultrassônica. Para o método de ativação ultrassônica, após a condensação de cada incremento de MTA com condensador manual # 7 no comprimento apropriado, a ponta do condensador foi introduzida em contato com o MTA no canal radicular sob vibração ultrassônica indireta por 1 segundo através da ponta ultrassônica (Obtura Spartan BUC 2 tip; Spartan, Fenton, MO) acoplada ao aparelho (Setallac, Bordeaux, France) calibrado em baixa potência. O excesso de MTA foi cuidadosamente removido e a espessura da barreira apical confirmada radiograficamente. Oito dentes foram utilizados como controle. A infiltração bacteriana foi avaliada diariamente durante 180 dias utilizando um modelo de infiltração em câmara dupla com *Enterococcus faecalis*. Os resultados foram analisados através do teste exato de Fisher. Após 60 dias, houve diferença significativa na infiltração entre os grupos A (2 de 10) e B (8 de 11) ( $P= 0.05$ ). O período de tempo antes da ocorrência da infiltração mostrou diferença entre os grupos A (158 dias) e B (23 dias) ( $P= 0.05$ ). Os autores concluíram que a inserção ultrassônica do MTA por via ortógrada foi efetiva no atraso da infiltração bacteriana e que a vibração ultrassônica foi um método útil na condensação do MTA devido a maior eficiência da energia ultrassônica quando comparada a condensação manual no escoamento apical do material.

## 2.2 *Smear layer*

A *smear layer* pode ser definida como uma camada amorfa, irregular e granular observada ao microscópio eletrônico de varredura (MEV), resultante dos procedimentos de limpeza e formatação do sistema de canais radiculares. Consiste de uma camada superficial aderida às paredes do canal radicular de aproximadamente 1 a 2 micrometros de espessura. Apresenta em sua estrutura componentes orgânicos e inorgânicos que podem ser forçados para o interior dos túbulos dentinários até variáveis distâncias, como resultado dos movimentos linear e rotatório dos instrumentos e devido a ação capilar gerada entre túbulos dentinários e o material produzido. Dentre os componentes orgânicos estão: tecido pulpar vivo e ou necrótico, tais como remanescente de processos odontoblásticos, proteínas coaguladas, células sanguíneas, saliva, bactérias e seus subprodutos. Os componentes inorgânicos são representados pelas raspas de dentina e materiais inorgânicos inespecíficos provenientes de tecido dentário calcificado (MADER; BAUMGARTNER; PETERS, 1984).

Para sua completa remoção, torna-se necessário o uso combinado de soluções irrigadoras. A solução de NaOCl tem ação comprovada na literatura devido principalmente às suas propriedades antimicrobiana e solvente de tecido orgânico. Apresenta maior parte dos requisitos para uma solução irrigadora ideal, no entanto, não age como quelante (ÇOBANKARA; OZKAN; TERLEMEZ, 2010). O ácido etileno-diamino-tetracético 17% (EDTA) é uma solução amplamente utilizada na Endodontia capaz de reagir com os íons cálcio dos cristais de hidroxiapatita, removendo-os da estrutura dentinária. Desta forma, para se obter uma limpeza máxima do sistema de canais radiculares após sua instrumentação faz-se necessário intercalar a utilização de um solvente de tecido orgânico a um agente quelante. Esta combinação remove tanto debris superficiais quanto a *smear layer*, o que não ocorre quando da utilização isolada de uma das soluções irrigadoras (GOLDMAN *et al.*, 1982; YAMADA *et al.*, 1983). Além da remoção da *smear layer*, o uso combinado das soluções de NaOCl e EDTA 17% apresenta ação antimicrobiana contra *E. faecalis*. Este efeito é ainda ampliado pelo uso alternado de tais soluções e promove a eliminação desse microrganismo à longo prazo (SOARES *et al.*, 2010).

Yildirin, Oruçoglu e Çobankara (2008) realizaram um estudo *in vitro* com o objetivo de avaliar o efeito da remoção da *smear layer* na infiltração apical em dentes obturados com MTA. 50 incisivos centrais superiores foram instrumentados até lima # 60 utilizando a técnica escalonada e posteriormente divididos em dois grupos experimentais (n=20). No grupo I, os dentes foram irrigados apenas com NaOCl (5,25%). No grupo II, com o objetivo de remover a

*smear layer*, a irrigação foi realizada com 10 mL de EDTA 17% seguido por 10 mL de NaOCl 5,25%, através de agulha gauge 23 introduzida no interior do canal radicular sem encontrar resistência. Os canais foram irrigados com água destilada e secos com pontas de papel absorvente. Os dentes foram preenchidos com MTA e o método computadorizado de filtragem de fluido foi utilizado para avaliar a microinfiltração apical. A mensuração quantitativa da infiltração apical de cada dente foi realizada após 2, 30 e 180 dias. Análise estatística dos resultados foi realizada através dos testes Mann-Whitney U e Wilcoxon. Ao final do estudo, não houve diferença entre os grupos após 2 dias, porém, a remoção da *smear layer* causou significativamente maior infiltração apical que quando deixada intacta por 30 e 180 dias ( $P=0.005$ ). Dentro das limitações deste estudo, os autores concluíram que a microinfiltração apical do MTA utilizado por via ortógrada como material obturador é menor na presença da *smear layer* que na sua remoção. As vantagens e desvantagens da manutenção desta camada são pontos controversos. Segundo os autores, as informações disponíveis na literatura não são suficientes para se estabelecer o efeito da *smear layer* na propriedade de selamento do MTA ao longo do tempo, havendo necessidade de novas pesquisas para se estabelecer a influência desta camada na adaptação apical do MTA.

### 2.3 MEV

A microscopia eletrônica de varredura tem sido empregada em estudos experimentais para a avaliação da adaptação marginal de materiais retrobturadores (TORABINEJAD *et al.*, 1995; FIGUEIREDO *et al.*, 2008; BADR, 2010), bem como da adaptação de barreiras apicais em casos de rizogênese incompleta (BIDAR *et al.*, 2010) e avaliação da microestrutura do material obturador (SAGHIRI *et al.*, 2009).

Torabinejad *et al.* (1995) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a adaptação do MTA como material retrobturador, comparando-o com Super EBA, IRM e amálgama, através da microscopia eletrônica de varredura. Neste trabalho, 88 dentes unirradiculados tiveram os canais formatados e obturados. Após a ressecção apical e a confecção do retropreparo com 3 mm de profundidade, quarenta espécimes receberam retrobturações sendo depois divididas longitudinalmente em duas metades. Cada metade foi desidratada, metalizada e as distâncias entre material e parede dentinária foram medidas nas quatro extremidades de cada corpo de prova. Os 48 dentes restantes, foram divididos em 2 grupos de 24 espécimes. Um grupo teve os retropreparos confeccionados com broca e o outro grupo

recebeu os retropreparos com pontas ultrassônicas. Em seguida foram confeccionadas réplicas em resina, preparadas sem desidratação e levadas ao MEV, sendo as distâncias medidas em 4 pontos. O exame das secções longitudinais mostrou trincas na estrutura dental e falhas na interface dentina-material. *Gaps* de tamanhos variados foram observados em cada um dos materiais testados, tendo sido comprovado que o MTA apresentou melhor comportamento e o IRM o pior. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os desempenhos do amálgama e do Super EBA. O exame das superfícies apicais ressecadas também apresentou trincas e *gaps* entre dentina e material retrobturador. O exame das réplicas não revelou presença de trincas. O método de preparo das retrocavidades não apresentou efeito significativo no tamanho dos *gaps* verificados. Não foram verificados *gaps* nas superfícies ressecadas das amostras obturadas com MTA. De acordo com os resultados obtidos, os autores concluíram que o MTA apresentou vedamento marginal superior ao amálgama, ao Super EBA e ao IRM.

Figueiredo *et al.* (2008) realizaram um estudo *in vitro* com o objetivo de avaliar a adaptação marginal de materiais retrobturadores por MEV. Foram utilizados 12 pré-molares inferiores apicetomizados cujos 3 mm finais de cada raiz foram removidos, executando-se em seguida os retropreparos com profundidade de 3 mm com auxílio de pontas ultrassônicas. Os espécimes foram divididos em 3 grupos experimentais de 4 elementos cada e realizadas as retrobturações com amálgama, Super EBA e MTA. Todos os espécimes foram analisados ao MEV e fotografados inicialmente com aumento de 78X e em seguida, divididos em quatro quadrantes. Cada quadrante foi ampliado em 1000X e fotografado. As imagens obtidas através do MEV foram transferidas para um microcomputador através de uma Interface de Transferência de Imagem Digital (DITI), armazenadas e posteriormente analisadas para verificação e medição dos *gaps* eventualmente encontrados entre o material retrobturador e as paredes dentinárias. Utilizando-se um retículo milimetrado constituído de quinze linhas verticais e quatorze horizontais, construído no programa Power Point 2002, sobreposto às fotomicrografias de cada quadrante, procedeu-se a determinação das medidas dos *gaps*. Tais medidas foram determinadas, em micrometros ( $\mu\text{m}$ ), nos pontos em que as linhas de interseção do retículo coincidiram com os *gaps*. Após análise estatística dos dados obtidos, os autores concluíram que os três materiais testados apresentaram falhas na adaptação marginal, não havendo diferença significativa em relação às dimensões lineares dos *gaps*.

Saghiri *et al.* (2009) avaliaram a microestrutura e a dureza de superfície do MTA (WMTA) após exposição à ambientes com alcalinidades variáveis através da microscopia eletrônica de varredura e teste de dureza específico. Sessenta envelopes de MTA foram

manipulados individualmente de acordo com as instruções do fabricante e o material inserido em tubos de vidro com diâmetro interno de 5 mm e altura de 10 mm com auxílio de um porta-MTA não-cirúrgico. Após o preenchimento, o MTA foi condensado manualmente com condensadores endodônticos sob pressão constante. Os tubos foram divididos em 4 grupos experimentais (n=15) de acordo com o pH do meio a que foram expostos (7,4; 8,4; 9,4 e 10,4) por 3 dias. Doze tubos de cada grupo experimental foram utilizados para o teste de dureza. Para a avaliação da microestrutura do MTA ao MEV, foram preparados 3 tubos por grupo totalizando 12 espécimes. As imagens foram realizadas nos aumentos de 1.000 e 5.000X. As análises microscópicas avaliaram contrastes na topografia do material em termos de formação de cristais e ainda a qualidade da microestrutura após a presa do MTA. Neste contexto, foi possível avaliar através da densidade relativa do material, a presença de grânulos não hidratados,  $\text{Ca(OH)}_2$  e porosidades. De acordo com a metodologia empregada, os resultados do estudo mostraram que a dureza de superfície do MTA pode ser influenciada por diferentes valores de pH. Em relação à microestrutura do material, observou-se nos valores de pH 7,4 e 8,4 a formação de cristais em forma de agulha e nos valores de 9,4 e 10,4 a presença de uma estrutura amorfa. Maior quantidade de estruturas não hidratadas e porosidades foram detectadas nos valores de pH 7,4 e 10,4. Concluiu-se que a variação de alcalinidade do meio interferiu tanto na microestrutura do material quanto na dureza de superfície do mesmo.

Em 2010, Badr realizou um estudo com o objetivo de avaliar a adaptação marginal bem como a citotoxicidade do cimento adesivo de polimetilmetacrilato (PMMA), MTA e amálgama como materiais retrobturadores. Foram utilizados 30 dentes unirradiculados extraídos de humanos. Os dentes foram preparados, instrumentados e obturados com gutapercha e cimento AH 26. Após a remoção de 3 mm apicais, foram preparadas as retrocavidades que posteriormente foram preenchidas com os três materiais a serem testados. Os ápices retrobturados foram moldados e as réplicas fabricadas através de resina epóxica. As raízes originais foram seccionadas longitudinalmente em 2 partes e então tanto as réplicas como as partes seccionadas foram preparadas para análise ao MEV. As distâncias entre material obturador e as paredes cavitárias foram medidas em 4 pontos na interface material/dentina nos cortes longitudinais bem como diretamente no ápice. Além da avaliação microscópica, também foi realizado o teste de citotoxicidade dos materiais em culturas de células do ligamento periodontal humano. Após a análise estatística dos resultados, verificou-se que os materiais PMMA e MTA apresentaram melhor adaptação marginal quando comparados ao amálgama e ainda mostraram menor citotoxicidade. Na opinião dos autores, o cimento adesivo PMMA pode ser considerado uma opção viável como material retrobturador.

Bidar *et al.* (2010) realizaram um trabalho com o objetivo de avaliar o efeito da utilização do hidróxido de cálcio como pré-medicação na adaptação marginal do MTA como barreira apical. Para tal estudo, 40 dentes unirradiculados foram preparados e tiveram seus ápices reabsorvidos através da utilização de ácido sulfúrico por 4 dias. Os dentes foram divididos em 2 grupos experimentais de acordo com a utilização de  $\text{Ca(OH)}_2$  intracanal por 7 dias antes da inserção do *plug* apical de MTA com 4 mm de espessura (“medicados”) ou não (“não medicados”). As raízes foram montadas em *stubs* de alumínio e os ápices observados sob microscopia eletrônica de varredura no aumento de 100X. As distâncias máximas entre MTA e dentina foram medidas em 4 pontos por dente avaliado. As medidas médias nos grupos medicados e não medicados foram de 70,2  $\mu\text{m}$  e 130,0  $\mu\text{m}$  respectivamente ( $p < 0.05$ ). Diante dos resultados obtidos, os autores concluíram que a utilização do  $\text{Ca(OH)}_2$  previamente a confecção do *plug* apical pode melhorar a adaptação marginal do MTA.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar a adaptação apical obtida pela aplicação do MTA em modelo experimental de rizogênese incompleta.

#### **3.2 Objetivo Específico**

Avaliar a influência da remoção da *smear layer* e da aplicação do MTA utilizando-se da vibração ultrassônica indireta na adaptação do *plug* apical como barreira apical em modelo experimental de dente com rizogênese incompleta através da microscopia eletrônica de varredura.

## REFERÊNCIAS GERAIS

- AL-KAHTANI, A. *et al.* In vitro evaluation of microleakage of an orthograde apical plug of mineral trioxide aggregate in permanent teeth with simulated immature apices. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.31, n.2, p.117-119, Feb. 2005.
- BADR, A.E. Marginal Adaptation and Cytotoxicity of Bone Cement compared with Amalgam and Mineral Trioxide Aggregate as Root-end Filling Materials. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.6, p.1056-1060, June 2010.
- BIDAR, M. *et al.* Medication with Calcium Hydroxide Improved Marginal Adaptation of Mineral Trioxide Aggregate Apical Barrier. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.10, p.1679-1682, Oct. 2010.
- BORBA, M.G.; FACHIN, E.V.F. Avaliação do fechamento radicular em dentes com rizogênese incompleta. **Revista Odonto Ciência**, Porto Alegre, v.16, n.32, p.68-76, jan.-abr. 2001.
- ÇOBANKARA, F.K.; OZKAN, H.B.; TERLEMEZ, A. Comparison of Organic Tissue Dissolution Capacities of Sodium Hypochlorite and Chlorine Dioxide. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.2, p.272-274, Feb. 2010.
- DE DEUS, G. *et al.* Similar expression of through-and-through fluid movement along orthograde apical plugs of MTA Bio™ and white Portland cement. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.41, n.12, p.1047-1053, Dec. 2008.
- DE DEUS, Q.D. **Endodontia**. 5<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992.
- FELIPPE, W.T.; FELIPPE, M.C.S.; ROCHA, M.J.C. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.39, n.1, p.2-9, Jan. 2006.
- FIGUEIREDO, N.F. *et al.* Microscopia eletrônica de varredura da adaptação marginal de materiais retroobturadores: avaliação histoquantitativa. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v.65, n.1, p.90-95, jan./jun. 2008.
- FRANK, A.L. Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. **Journal of American Dental Association**, Chicago, n.72, p.87-93, Jan. 1966.
- GOLDMAN, M. *et al.* The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a SEM study: part two. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.8, n.11, p.487-492, Nov. 1982.
- HACHMEISTER, D.R. *et al.* The sealing ability and retention characteristics of mineral trioxide aggregate in a model of apexification. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 28, n.5, p.386-390, May 2002.
- HEITHERSAY, G.S. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless with associated pathology. **Journal of the British Endodontic Society**, London, v.8, n.2, p.74-91, July 1975.

HOLDEN, D.T. *et al.* Clinical outcomes of artificial root-end barriers with mineral trioxide aggregate in teeth with immature apices. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.37, n.7, p.812-817, July 2008.

KIM, U.S. *et al.* In vitro evaluation of bacterial leakage resistance of an ultrasonically placed mineral trioxide aggregate orthograde apical plug in teeth with wide open apices: a preliminary study. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontic**, St. Louis, v.107, n.4, p.52-56, Apr. 2009.

LAWLEY, G.R. *et al.* Evaluation of ultrasonically placed MTA and fracture resistance with intracanal composite resin in a model of apexification. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.30, n.3, p.167-72, Mar. 2004.

LEE, S.J.; MONSEF, M; TORABINEJAD, M. The sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.19, n.11, p.541-544, Nov. 1993.

MADER, C. L.; BAUMGARTNER, J. C.; PETERS, D. D. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.10, n.10, p.477-483, Oct. 1984.

MARTIN, R.L. *et al.* Sealing properties of Mineral Trioxide Aggregate orthograde apical plugs and root fillings in an In Vitro model. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.33, n.3, p.272-275, Mar. 2007.

MORSE, D.R.; O'LARNIC, J.; YESILSOY, C. Apexification: review of the literature. **Quintessence International**, Illinois, v.7, n.21, p.589-598, July 1990.

SAGHIRI, M.A. *et al.* Scanning Electron Micrograph and Surface Hardness of Mineral Trioxide Aggregate in the Presence of Alkaline pH. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.35, n.5, p.706-710, May 2009.

SCHILDER, H. Filling root canals in three dimensions. **Dental Clinics of North America**, Philadelphia, v.11, n.6, p.723-744, Nov. 1967.

SCHILDER, H. Cleaning and shaping the root canal. **Dental Clinics of North America**, Philadelphia, v.18, n.2, p.269-296, Apr. 1974.

SIMON, S. *et al.* The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.40, n.3, p.186-197, Mar. 2007.

SOARES, J.A. *et al.* Effectiveness of chemomechanical preparation with alternating use of Sodium Hypochlorite and EDTA in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* Biofilm. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n. 5, p. 894-898, May 2010.

TORABINEJAD, M.; CHIVIAN, N. Clinical Applications of Mineral Trioxide Aggregate. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.25, n.3, p.197-205, Mar. 1999.

TORABINEJAD, M. *et al.* Comparative investigation of marginal adaptation of Mineral Trioxide Aggregate and other commonly used root-end filling materials. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.21, n.6, p.295-299, June 1995.

YAMADA, R. S. *et al.* A Scanning Electron Microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: part three. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.9, n.4, p.137-142, Apr.1983.

YILDIRIM, T.; ORUÇOĞLU, H.; ÇOBANKARA, F.K. Long-term evaluation of the Influence of the Smear Layer on the Apical Sealing Ability of MTA. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 34, n.12, p.1537-1540, Dec. 2008.

WITHERSPOON, D. E. *et al.* Retrospective analysis of open apex teeth obturated with Mineral Trioxide Aggregate. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.34, n.10, p.1171-1176, Oct. 2008.

**APÊNDICE – ARTIGO****ADAPTAÇÃO APICAL DO MTA EM MODELO EXPERIMENTAL DE RIZOGÊNESE INCOMPLETA EM FUNÇÃO DO MODO DE APLICAÇÃO E REMOÇÃO DA *SMEAR LAYER*: ANÁLISE EM MEV.**

MTA APICAL ADAPTATION IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF IMMATURE TOOTH ON THE MODE OF APPLICATION AND REMOVAL OF THE SMEAR LAYER: ANALYSIS IN SEM.

Ana Cristina Carvalho de Araújo\*  
Frank Ferreira Silveira\*\*

**Resumo**

O MTA tem sido utilizado em procedimentos de apicificação, trazendo benefícios em relação ao tempo total do tratamento quando comparado ao uso do hidróxido de cálcio, embora apresente dificuldades na sua adaptação e no controle de extrusão. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a adaptação apical quando da utilização do MTA como *plug* apical em modelo experimental, simulando rizogênese incompleta através da microscopia eletrônica de varredura. Foram utilizados 18 dentes unirradiculados extraídos de humanos, divididos em quatro grupos experimentais (n=4) e um controle (n=2). Os dentes foram padronizados com o comprimento radicular em 10 mm, através da remoção da porção coronária e de 3 mm da porção apical. Ápices abertos foram padronizados através do uso de brocas Gates Glidden # 6 a # 1 por via ortógrada, sendo a #1 utilizada de modo a ultrapassar o forame apical. Em seguida, com o objetivo de se criar paredes apicais divergentes, realizou-se o retropreparo com auxílio de uma lima Profile # 40 conicidade 0.06 (D 16= 1,36 mm) inserida no comprimento total de sua parte ativa. Todos os dentes foram submetidos à irrigação com hipoclorito de sódio 5,25% durante os procedimentos de preparo. Após a fixação dos dentes em espuma umedecida, realizou-se o preenchimento de acordo com o grupo experimental. No grupo I, os dentes foram preenchidos apicalmente com MTA branco; no grupo II, o preenchimento foi realizado com MTA seguido da vibração ultrassônica passiva por 5 segundos; no grupo III, da mesma maneira do grupo I, precedido pela remoção da *smear layer* com EDTA 17% e no grupo IV, semelhante ao grupo II com remoção prévia da *smear layer* com EDTA 17%. No grupo controle, os dentes foram obturados com guta-percha termoplastificada e o preenchimento apical com MTA realizado por via retrógrada. As

---

\* Especialista em Endodontia (IPSEMG); Mestranda em Endodontia (PUC Minas).

\*\* Professor de Pós-Graduação (PUC Minas); Doutor em Endodontia (UNESP).

amostras foram analisadas ao MEV, com aumento de 1000X, para a medição de possíveis *gaps* entre MTA e as paredes dentinárias. As medidas foram tomadas em 12 pontos previamente determinados, sendo repetidos em todos os espécimes, perfazendo 48 pontos para cada grupo experimental. Os dados obtidos foram avaliados estatisticamente através do teste ANOVA. O grupo IV apresentou os menores valores de *gaps* quando comparado aos demais ( $p < 0.005$ ); não houve diferença estatística entre os grupos I, II e III. A técnica de inserção do MTA utilizando-se da vibração ultrassônica passiva associada à remoção da *smear layer* favoreceu a adaptação marginal do material.

**Palavras-chave:** Apicificação. Microscopia eletrônica de varredura. MTA. *Smear layer*.

## INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico tem por objetivos básicos a limpeza e formatação do sistema de canais radiculares (SCR) bem como sua obturação tridimensional. Uma obturação adequada deve proporcionar vedamento hermético, impedir a reinfecção e favorecer o processo biológico de reparo dos tecidos periapicais (SCHILDER, 1967; SCHILDER, 1974).

No caso de dentes que apresentam rizogênese incompleta, a obturação do sistema de canais radiculares torna-se um desafio. A dificuldade reside nas seguintes condições: o canal apresentar maior largura na porção apical quando comparada a porção cervical, dificuldade de se estabelecer precisamente o comprimento de trabalho, ausência de constrição apical e a propensão a fratura atribuída às finas paredes dentinárias (BORBA; FACHIN, 2001).

A apicificação é um método de indução do fechamento apical através da formação de um tecido mineralizado na região apical de um dente não vital com formação radicular incompleta. A indução desse fechamento é usualmente realizada utilizando uma pasta de hidróxido de cálcio e um veículo fisiológico (MORSE; O'LARNIC; YESILSOY, 1990), sendo necessárias trocas sucessivas até que a formação da barreira apical seja concluída. O tempo total da terapia utilizando hidróxido de cálcio pode variar de seis meses a dois anos em função do estágio do desenvolvimento radicular e da presença ou ausência de infecção (FRANK, 1966; HEITHERSAY, 1975).

A apicificação em sessão única consiste da condensação não-cirúrgica de um material biocompatível no interior da porção apical do canal radicular na tentativa de se estabelecer uma barreira apical que permita o preenchimento imediato do sistema de canais radiculares e

restauração permanente do elemento dental envolvido (MORSE; O'LARNIC; YESILSOY, 1990).

O material atualmente utilizado nesta técnica de apicificação é o *Mineral Trioxide Aggregate* (MTA). Características como boa capacidade de vedamento, habilidade de atuar na presença de umidade e biocompatibilidade fazem do MTA um material promissor na prática endodôntica estendendo suas aplicações clínicas (WITHERSPOON *et al.*, 2008).

O tratamento de dentes com formação radicular incompleta com MTA pode trazer benefícios tanto ao paciente quanto ao profissional. A redução do tempo requerido ao tratamento, melhor cooperação e motivação do paciente e possível eliminação de problemas que surgem ao longo de tratamentos extensos, como dificuldade de manutenção de um selamento provisório adequado e integridade do remanescente dentário, tornam a apicificação com MTA uma alternativa no tratamento de elementos dentários com rizogênese incompleta (MARTIN *et al.*, 2007). Entretanto, dificuldades técnicas para aplicação do material podem interferir na sua adaptação bem como no controle de sua extrusão.

A *smear layer*, definida como uma camada amorfa, irregular e granular observada ao microscópio eletrônico de varredura (MEV), resulta dos procedimentos de limpeza e formatação do sistema de canais radiculares (MADER; BAUMGARTNER; PETERS, 1984). Por ser constituída por substâncias orgânicas e inorgânicas, torna-se necessário o uso de soluções combinadas para sua efetiva remoção. A utilização de um solvente de tecido orgânico (NaOCl) intercalado a um agente quelante como o ácido etileno-diamino-tetracético 17% (EDTA), remove tanto debris superficiais quanto a *smear layer*, o que não ocorre quando da utilização isolada de uma das soluções irrigadoras (YAMADA *et al.*, 1983). A influência da remoção dessa camada no selamento apical do MTA ainda é controversa, não havendo consenso na literatura a esse respeito (YILDIRIM; ORUÇOGLU; ÇOBANKARA, 2008).

A utilização da microscopia eletrônica de varredura ao longo dos anos vem sendo importante, principalmente na avaliação da adaptação marginal de materiais retrobturadores (TORABINEJAD *et al.*, 1995; FIGUEIREDO *et al.*, 2008; BADR, 2010), da adaptação de barreiras apicais em casos de rizogênese incompleta (BIDAR *et al.*, 2010) e da microestrutura do material obturador (SAGHIRI *et al.*, 2009).

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da remoção da *smear layer* e da aplicação do MTA utilizando-se da vibração ultrassônica indireta na adaptação do *plug* apical em dentes com rizogênese incompleta por MEV.

## **MATERIAL E MÉTODO**

### **Seleção dos dentes**

Após o parecer favorável do Comitê de Ética da PUC Minas, foram selecionados 18 dentes humanos extraídos, unirradiculados, em bom estado de preservação, com formação radicular completa, ausência de cárie e linha de fratura, comprimento variando entre 22 e 25 mm. Os remanescentes de cálculos e debris orgânicos aderidos à superfície radicular foram removidos com a utilização de curetas universal para raspagem periodontal, números 13-14 (SS White Artigos Dentários, Rio de Janeiro, Brasil). Os dentes foram armazenados em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% (Lenza Farmacêutica, Divisão Odontológica, Belo Horizonte, Brasil) por um período de 2 a 4 semanas até o momento da execução do preparo do SCR.

### **Preparo inicial do SCR**

A cavidade de acesso foi realizada de maneira convencional seguida pela localização do canal radicular. O comprimento de trabalho foi determinado visualmente pela inserção de lima tipo K # 15 (Maillefer, Ballaigues, Switzerland) no interior do canal. As coroas foram removidas ao nível da junção amelo-cementária e as raízes cortadas na porção cervical com auxílio de disco de carborundum (SS White Artigos Dentários, Rio de Janeiro, Brasil) de modo a padronizar o comprimento total de 13 mm. Foram removidos 3 mm do terço apical para eliminar deltas apicais e padronizar a saída do canal no centro da raiz, restando assim, raízes com 10 mm de comprimento.

### **Procedimentos para abertura do ápice**

Ápices artificialmente abertos foram criados através da preparação dos canais com brocas Gates Glidden # 6 a # 1 (Maillefer, Ballaigues, Switzerland) no sentido coroa-ápice, sendo a broca # 1 utilizada de maneira a ultrapassar o forame apical (FIG. 1). Os canais foram irrigados a cada troca de instrumento com solução de hipoclorito de sódio 5,25% (Lenza Farmacêutica, Divisão Odontológica, Belo Horizonte, Brasil).

A divergência do preparo apical foi realizada atingindo o diâmetro de 1,36 mm no forame através de instrumentação retrógrada com lima Profile # 40 conicidade 0.06 (D16; 1,36 mm de diâmetro) (Maillefer, Ballaigues, Switzerland) inserida em todo o comprimento de sua parte ativa (FIG. 2). Os canais foram secos com pontas de papel absorvente # 80 (Tanari-Tanariman Indústria Ltda. Manacapuru, AM, Brasil) e a forma e integridade dos

forames apicais avaliados microscopicamente com aumento de 13X (M-900 DF Vasconcelos, São Paulo, Brasil).



**Figura 1: Brocas Gates Glidden # 6 a # 1. Preparo realizado no sentido coroa-ápice, sendo a broca #1 utilizada de maneira a ultrapassar o forame apical.**



**Figura 2: Retropreparo realizado com lima Profile # 40 conicidade 0.06 inserida no comprimento total de sua parte ativa.**

### Remoção da *smear layer*

Após o preparo apical dos dentes, os mesmos foram divididos em 2 grupos experimentais em função da remoção ou não da *smear layer* (n=8). No grupo em que a *smear layer* foi mantida, a irrigação foi realizada com 10 mL de NaOCl 5,25% (Lenza Farmacêutica, Divisão Odontológica, Belo Horizonte, Brasil). No grupo em que foi removida a *smear layer*, a irrigação foi realizada com 5 mL de EDTA 17% (Lenza Farmacêutica, Divisão Odontológica, Belo Horizonte, Brasil) seguida de 5 mL de NaOCl 5,25% (Lenza Farmacêutica, Divisão Odontológica, Belo Horizonte, Brasil) (FIG. 3). Em ambos os casos, a irrigação foi realizada com agulha de 23G (Injex Indústrias Cirúrgicas Ltda. Ourinhos, SP, Brasil). Os dentes foram novamente secos com pontas de papel absorvente # 70 (Tanari-Tanariman Indústria Ltda. Manacapuru, AM, Brasil).

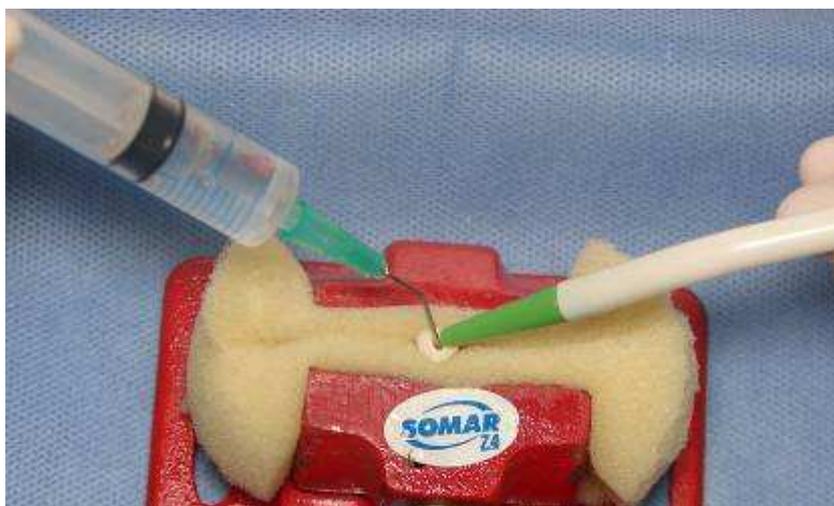


Figura 3: Irrigação e aspiração simultânea do espécime.

### Procedimentos para preenchimento do ápice aberto

Os espécimes foram redivididos em quatro grupos experimentais (n=4) e dois dentes utilizados como controle. Os dentes foram fixados em uma espuma umedecida para simular as características dos tecidos periapicais e oferecer leve resistência à extrusão do material no momento do preenchimento.

No grupo I, 1g de MTA branco (WMTA Angelus, Londrina, Brasil) foi misturado com 0,35 mL de água destilada seguindo as orientações do fabricante. O MTA foi acomodado o mais próximo possível do ápice com o auxílio de um porta MTA específico (Ápice Instrumentos Odontológicos, Belo Horizonte, Brasil) sob visão microscópica com aumento de 13X (M-900 DV Vasconcelos, São Paulo, Brasil) e compactado utilizando os condensadores

tipo Schilder (Odous De Deus, Belo Horizonte, Brasil) até atingir a espessura de 5 mm (FIG. 4 e 5). Pontas de papel absorvente # 70 (Tanari-Tanariman Indústria Ltda. Manacapuru, AM, Brazil) umedecidas com solução salina foram introduzidas no canal radicular para assegurar a presa do cimento. Os dentes foram radiografados nas posições orto e mesiorradial para verificar a espessura e a qualidade do *plug* apical.

No grupo II, o preenchimento foi realizado com MTA branco de maneira semelhante ao grupo I, seguido da utilização de vibração ultrassônica indireta em baixa potência sem irrigação (ENAC Osada, Incorporated, Los Angeles, CA, USA) por 5 segundos em contato com condensador endodôntico (FIG. 6). No grupo III, em que foi realizada a remoção da *smear layer*, o preenchimento apical com MTA foi realizado de maneira similar ao grupo I. No grupo IV, o procedimento para o preenchimento apical foi realizado assim como descrito para o grupo II com a remoção prévia da *smear layer*. No grupo controle (n=2) os dentes foram obturados com guta-percha termoplastificada pelo sistema Obtura (SybronEndo, Orange, California, USA) e os 3 mm apicais foram preenchidos com MTA por via retrógrada. Os espécimes foram armazenados em estufa a 37 °C a 100% de umidade por 72 horas para permitir o endurecimento do cimento.



**Figura 4: Preenchimento apical com porta MTA.**



Figura 5: Compactação do *plug* apical com condensador tipo Schilder na espessura de 5 mm.

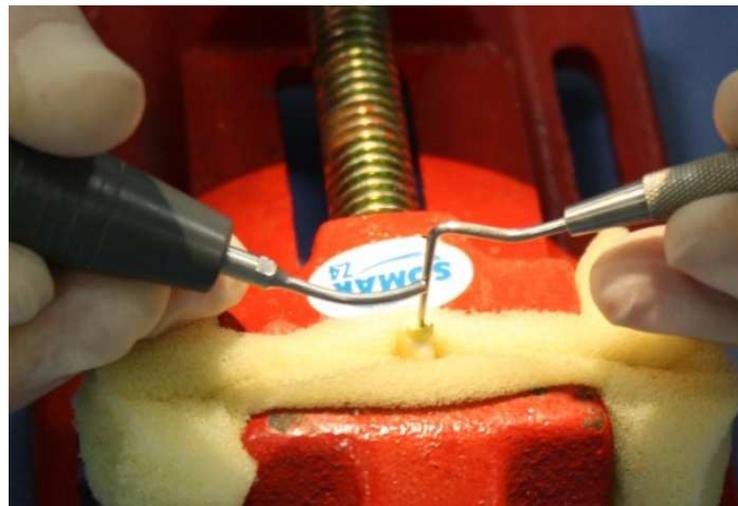


Figura 6: Vibração ultrassônica indireta em contato com condensador endodôntico por 5 segundos.

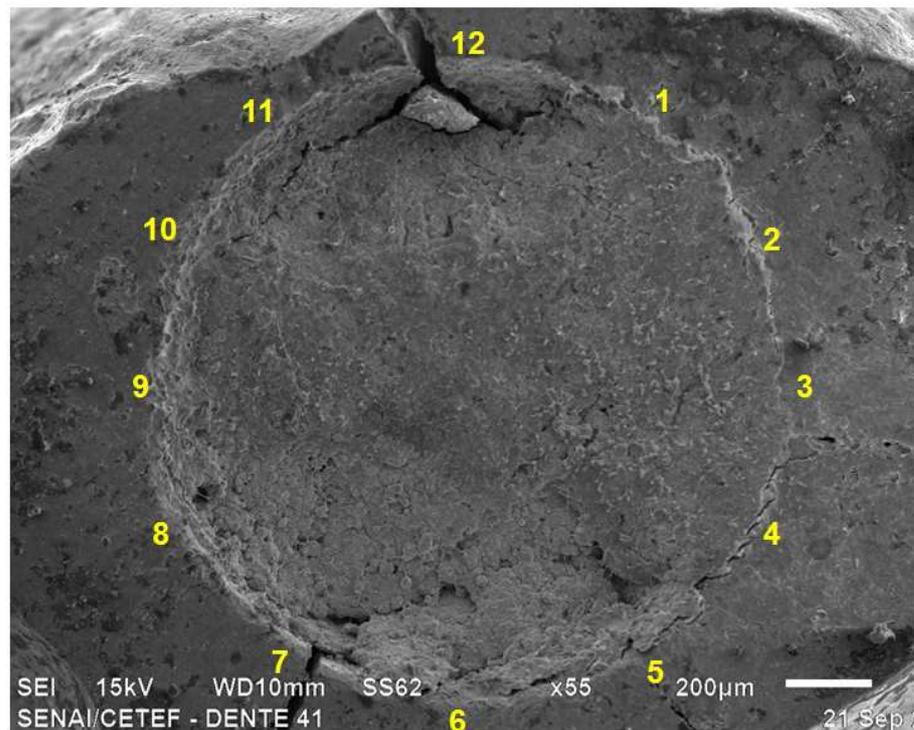
### **Análise em microscópio eletrônico de varredura**

Todos os dentes de cada grupo experimental foram analisados por MEV (JSM-6510LV, JEOL, Japan). Os espécimes foram secos com jatos de ar e em seguida armazenados em dessecador com sílica gel, até o processamento para análise. Após o período de secagem, as amostras foram fixadas em *stubs* de alumínio e levadas ao metalizador, para posterior avaliação. Os ápices de todos os dentes foram analisados e fotografados inicialmente com aumento de 55X, sendo selecionados os pontos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12 (FIG. 7). Posteriormente, para a avaliação de possíveis *gaps* entre o MTA e as paredes dentinárias, os

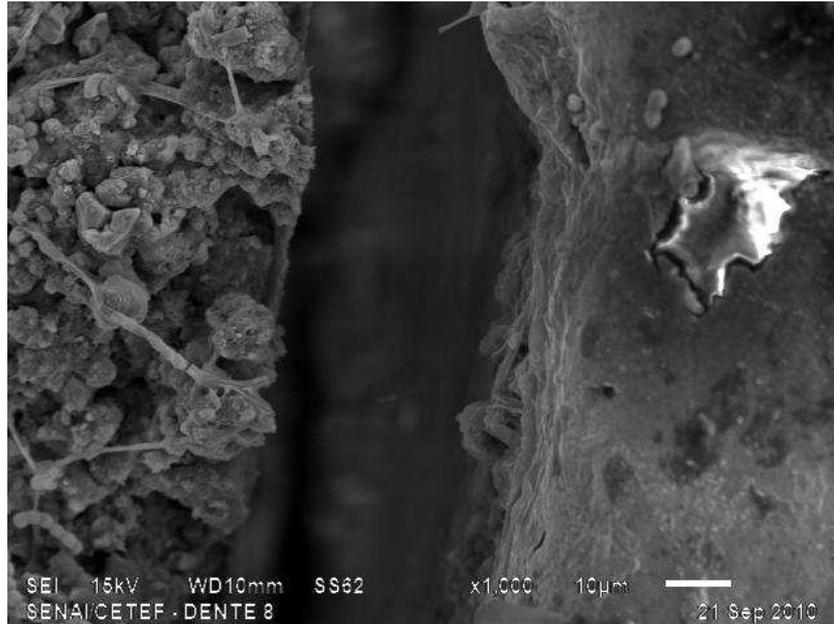
dentos foram avaliados com o aumento de 1000X (FIG. 8). O software SEM Control User Interface - Versão 2.01 2008, 2009 (JEOL TECHNICS LTD, Japan) foi utilizado para avaliação das imagens e determinação das medidas dos *gaps* (Fig. 9), em micrometros ( $\mu\text{m}$ ), nos pontos pré-determinados.

### Análise estatística

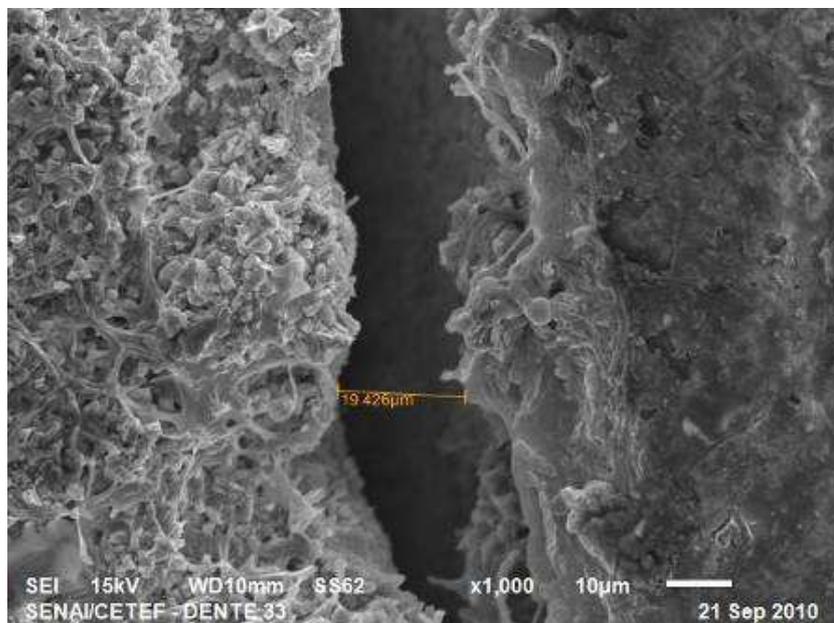
Os dados obtidos foram inseridos em uma tabela do programa Microsoft Excel 2007 e enviados para análise estatística. Utilizou-se o teste ANOVA – um critério, seguido pelo teste *post hoc* de Bonferroni com valor de alfa ajustado para 0.005 (software BioEstat 5.0, Belém, Brasil). O teste D'Agostino foi utilizado para aferir a normalidade da distribuição da variável estudada (variável de natureza cardinal com distribuição normal).



**Figura 7: Fotomicrografia de um ápice obturado no aumento de 55X. Os números em amarelo representam os pontos selecionados para avaliação posterior no aumento de 1000X.**



**Figura 8:** Fotomicrografia de um ponto determinado do ápice obturado com MTA em aumento de 1000X, evidenciando *gaps* entre material obturador (à esquerda) e parede dentinária (à direita).

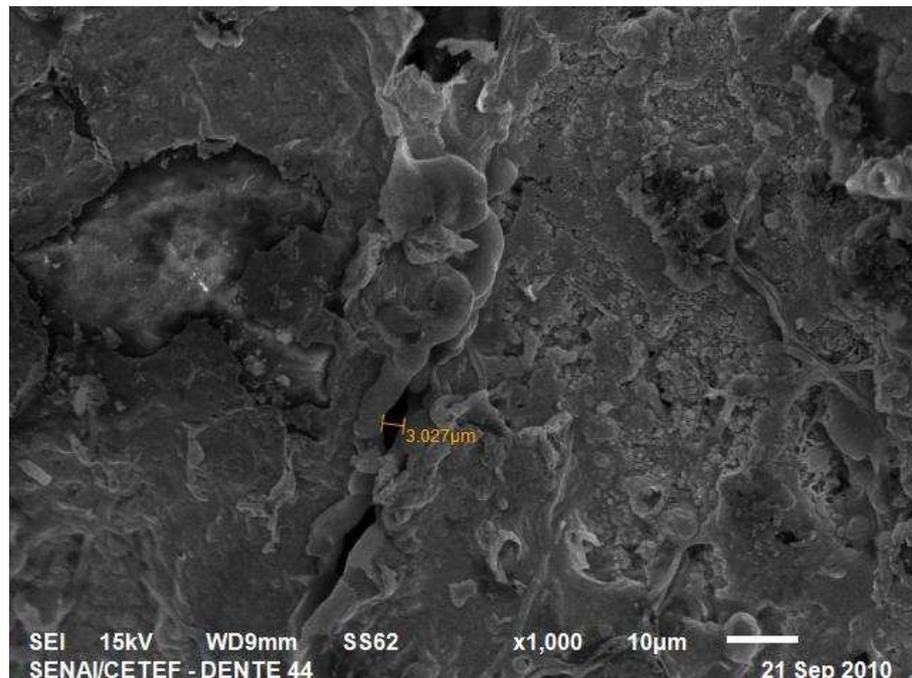


**Figura 9:** Fotomicrografia de um ponto determinado do ápice em aumento de 1000X, evidenciando a medida do *gap* (19,426 µm) entre MTA (à esquerda) e parede dentinária (à direita).

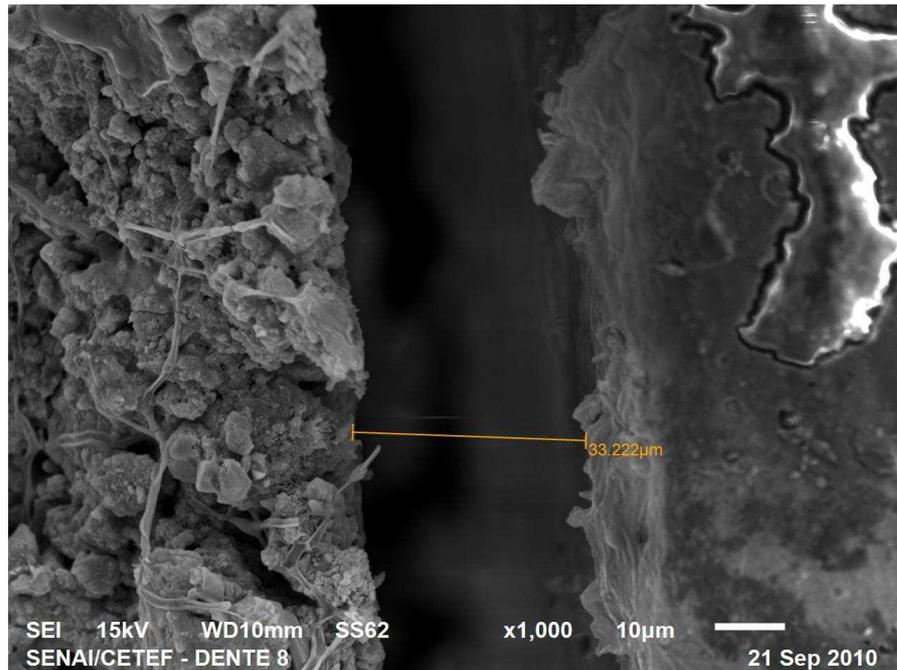
## RESULTADOS

Foram observados *gaps* entre MTA e as paredes dentinárias em todos os grupos avaliados com diferentes magnitudes (FIG. 10, 11 e 12). A tabela 1 representa a média e desvio padrão das medidas dos *gaps* entre os grupos.

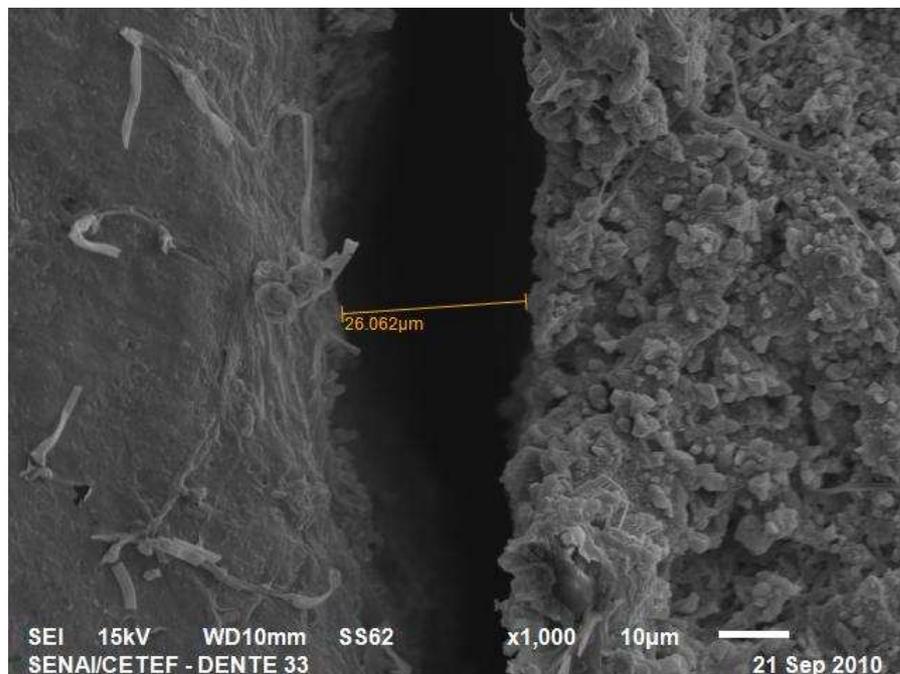
Não houve diferença significativa no padrão das medidas dos *gaps* entre os grupos I, II e III. A técnica de inserção do MTA utilizando-se da vibração ultrassônica passiva apresentou os menores valores de *gaps* quando associada à remoção da *smear layer* (grupo IV). A adaptação marginal do MTA neste grupo foi significativamente melhor quando comparada aos demais tratamentos realizados. A ordem decrescente das medidas dos *gaps* nos grupos experimentais foi III>II>I> IV. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos IV e controle (aplicação do material por via retrógrada).



**Figura 10:** Fotomicrografia correspondente ao ponto 9 em aumento de 1000X de um espécime do grupo IV (remoção da *smear layer* e vibração ultrassônica), evidenciando a medida do *gap* de 3,027 μm entre MTA (à direita) e parede dentinária (à esquerda).



**Figura 11:** Fotomicrografia correspondente ao ponto 3 em aumento de 1000X de um espécime do grupo I (presença da *smear layer* e não utilização da vibração ultrassônica), evidenciando a medida do *gap* de 33.222 µm entre MTA (à esquerda) e parede dentinária (à direita).



**Figura 12:** Fotomicrografia correspondente ao ponto 9 em aumento de 1000X de um espécime do grupo III (remoção da *smear layer* e não utilização da vibração ultrassônica), evidenciando a medida do *gap* de 26,062 µm entre MTA (à direita) e parede dentinária (à esquerda).

**TABELA 1**  
**Média e desvio padrão dos resultados da comparação entre os grupos**

Grupo	Gaps	Valor de p <sup>1</sup>
(1)	11,97 ± 10,25	<0.005 <sup>c d f g h i</sup> n.s. <sup>a b e j</sup>
(2)	13,40 ± 7,90	
(3)	15,47 ± 7,22	
(4)	3,38 ± 3,54	
(controle)	2,44 ± 2,69	

<sup>1</sup> Valor de p obtido pelo teste ANOVA – um critério, seguido pelo teste *post hoc* de Bonferroni com valor de alfa ajustado para 0.005; <sup>a</sup> 1 versus 2; <sup>b</sup> 1 versus 3; <sup>c</sup> 1 versus 4; <sup>d</sup> 1 versus controle; <sup>e</sup> 2 versus 3; <sup>f</sup> 2 versus 4; <sup>g</sup> 2 versus controle; <sup>h</sup> 3 versus 4; <sup>i</sup> 3 versus controle; <sup>j</sup> 4 versus controle

## DISCUSSÃO

Dentre suas inúmeras aplicações clínicas, o MTA apresenta-se como alternativa ao hidróxido de cálcio no tratamento de dentes imaturos que, por trauma ou infecção, tiveram sua formação radicular interrompida. Recentes estudos mostraram elevados índices de sucesso desse tipo de tratamento quando bem indicado e realizado sob condições específicas (SIMON *et al.*, 2007; HOLDEN *et al.*, 2008 e WITHERSPOON *et al.*, 2008).

Neste estudo, o preparo dos dentes foi realizado de maneira a padronizar o comprimento radicular em 10 mm e a posição foraminal no centro da raiz através da remoção dos 3 mm apicais. Tal remoção teve por objetivo de eliminar uma possível variação anatômica do forame, procedimento também realizado por Martin *et al.* (2007). Hachmeister *et al.* (2002), com objetivo semelhante, removeram aproximadamente dois milímetros do terço apical para eliminar deltas apicais e também padronizar a saída do forame no centro da raiz.

Ápices artificialmente abertos foram criados através da preparação dos canais com brocas Gates Glidden # 6 a # 1 no sentido coroa-ápice, sendo a broca #1 utilizada de modo a ultrapassar o forame apical, similarmente ao estudo de De Deus *et al.* (2008). A padronização da abertura do ápice e a divergência do preparo foram criadas através da instrumentação retrógrada do canal com instrumento rotatório # 40 conicidade 0.06 inserido no comprimento total de sua parte ativa. O preparo apical realizado desta maneira foi semelhante ao trabalho de Martin *et al.* (2007) em que se buscou a padronização dos espécimes com o mesmo diâmetro apical. No entanto, tal padronização não foi observada no estudo realizado por Bidar *et al.* (2010), uma vez que o preparo dos espécimes foi realizado através da reabsorção apical dos dentes fixados em espuma embebida por ácido sulfúrico durante 4 dias.

Existem variações entre os autores com relação às espessuras de barreira apical. Alguns autores utilizaram espessuras de 1 e 4 mm (HACHMEISTER *et al.*, 2002), 3 mm (DE-DEUS *et al.*, 2008), 4 mm (LAWLEY *et al.*, 2004; BIDAR *et al.*, 2010), 3 e 3-4 mm (FELIPPE, FELIPPE & ROCHA, 2006) ou 3-5 mm (MARTIN *et al.*, 2007). No presente estudo, a escolha do *plug* apical de MTA com 5 mm de espessura baseou-se no estudo de Al-Kahtani *et al.* (2005). Neste trabalho, os autores compararam o efeito de diferentes espessuras de MTA contra a infiltração bacteriana e concluíram que 5 mm do material preveniu totalmente a infiltração apical contra *A. viscosus*, promovendo um selamento apical adequado. Posteriormente, Simon *et al.* (2007) e Kim *et al.* (2009) também utilizaram barreiras apicais com 5 mm de espessura em seus respectivos estudos.

Na tentativa de reproduzir as condições clínicas para preenchimento do ápice aberto, a fixação dos dentes foi realizada de acordo com Martin *et al.* (2007) em espuma umedecida para simular consistência dos tecidos periapicais e oferecer leve resistência à extrusão do material obturador.

Com o objetivo de testar a hipótese de que a vibração ultrassônica poderia favorecer a adaptação de barreiras apicais com MTA e melhorar o vedamento do material, utilizou-se neste trabalho a vibração ultrassônica indireta aplicada ao condensador endodôntico, procedimento também realizado nos estudos de Lawley *et al.* (2004) e Kim *et al.* (2009). Segundo esses autores, a aplicação da vibração ultrassônica por via ortógrada foi efetiva no atraso da infiltração bacteriana e se mostrou um método útil na condensação do MTA devido a maior eficiência da energia ultrassônica quando comparada a condensação manual no escoamento apical do material. Os resultados do presente estudo mostraram que os menores valores de *gaps* foram observados quando da utilização da vibração ultrassônica em conjunto com a remoção da *smear layer*. Entretanto, a vibração ultrassônica indireta isoladamente não alterou a adaptação marginal do MTA.

A *smear layer* é resultado direto dos procedimentos de limpeza e formatação do sistema de canais radiculares (MADER; BAUMGARTNER; PETERS, 1984) e pode interferir na qualidade e vedamento da obturação desse sistema (TORABINEJAD *et al.*, 2002). Para sua completa remoção, faz-se necessário intercalar a utilização de um solvente de tecido orgânico a um agente quelante. A solução de NaOCl tem ação comprovada na literatura devido principalmente às suas propriedades antimicrobiana e solvente de tecido orgânico (ÇOBANKARA; OZKAN; TERLEMEZ, 2010). O EDTA 17% é uma solução quelante amplamente utilizada na Endodontia capaz de reagir com os íons cálcio dos cristais de hidroxiapatita, removendo-os da estrutura dentinária. Foi demonstrado que esta combinação

remove tanto debris superficiais quanto a *smear layer*, o que não ocorre quando da utilização isolada de uma das soluções irrigadoras (GOLDMAN *et al.*, 1982; YAMADA *et al.*, 1983). No presente estudo, para a remoção da *smear layer* foram utilizados 10 mL da solução de NaOCl 5,25%, seguido por 5 mL de EDTA 17% e lavagem final com 5 mL de NaOCl 5,25%.

As informações disponíveis na literatura ainda não são suficientes para se estabelecer o efeito da *smear layer* na habilidade de selamento do MTA ao longo do tempo. De acordo com Yildirin, Oruçoglu e Çobankara (2008), a microinfiltração apical do MTA quando utilizado por via ortógrada como material obturador é menor na presença da *smear layer* que quando da sua remoção. Segundo esses autores, a remoção da *smear layer* causou significativamente maior infiltração apical que quando deixada intacta por 30 e 180 dias. No presente estudo, de acordo com a metodologia empregada, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais em função da presença ou remoção da *smear layer* quando analisada isoladamente (grupos I e III). No entanto, esta diferença foi significativa quando os resultados foram comparados em função das variáveis remoção da *smear layer* e utilização da vibração ultrassônica indireta (grupos II e IV).

Diversos estudos *in vitro* sobre barreira apical com MTA em casos de rizogênese incompleta utilizam metodologias como infiltração bacteriana, corantes e filtragem de fluídos (HACHMEISTER *et al.*, 2002; LAWLEY *et al.*, 2004; AL-KAHTANI *et al.*, 2005; MARTIN *et al.*, 2007; DE-DEUS *et al.*, 2008; KIM *et al.*, 2009). Neste trabalho, procurou-se avaliar a adaptação do MTA através da microscopia eletrônica de varredura, assim como estudo de Bidar *et al.* (2010). Segundo esses autores, a adaptação marginal representa um método indireto de avaliação da habilidade de selamento do material obturador.

A presença de trincas foi observada ao MEV, o que não havia sido detectado posteriormente aos procedimentos de preenchimento apical realizados sob microscopia operatória. De acordo com Torabinejad *et al.* (1995) a ocorrência de tais trincas pode estar associada com a preparação da amostra para a observação por MEV, pelo fato de se submeter os espécimes a condições críticas de temperatura durante os procedimentos de metalização.

Com o objetivo de se fazer uma avaliação sem distorcer os resultados, selecionou-se aleatoriamente os pontos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12, que foram avaliados e fotografados em todos os espécimes com o aumento de 1000X. Desta forma, as fotomicrografias obtidas de cada corpo de prova disponibilizaram um universo amostral de 12 pontos por ápice avaliado e 48 para cada grupo experimental, quantidade considerada satisfatória para análise. Por outro lado, no estudo realizado por Badr (2010) foram avaliados 4 pontos por réplica de espécime, totalizando 40 pontos por grupo experimental (10

espécimes por grupo). A determinação de tais pontos de deu de maneira aleatória e foi ilustrada através de uma fotomicrografia. Já no trabalho de Bidar *et al.* (2010) foram avaliados 4 pontos por ápice, 20 dentes por grupo, totalizando 80 pontos por grupo experimental. Neste caso, os autores optaram pelos pontos de maior extensão mensurados em cada espécime.

A microscopia eletrônica de varredura é considerada um método indireto de avaliação da adaptação marginal do material obturador, no entanto, não deve ser utilizada para prever o sucesso do tratamento proposto. Desta forma, diante dos benefícios da utilização do MTA na formação da barreira apical em casos de rizogênese incompleta como a redução do tempo total requerido ao tratamento e manutenção da integridade do remanescente dentário, tornam-se necessários novos estudos que propiciem evidências científicas visando consolidar o sucesso clínico desta técnica de apicificação.

## CONCLUSÕES

De acordo com os achados deste estudo, foi possível concluir que:

1. A remoção da *smear layer* isoladamente não alterou a adaptação marginal do MTA como *plug* apical;
2. A vibração ultrassônica indireta isoladamente não alterou a adaptação marginal do MTA como *plug* apical;
3. A remoção da *smear layer* associada à vibração ultrassônica indireta favoreceu a adaptação marginal do MTA como *plug* apical.

## Abstract

The one-visit MTA apexification has the advantage of reducing the long-term calcium hydroxide treatment despite of difficulties on adaptation and extrusion control. The aim of this study was to evaluate the marginal adaptation of MTA as an apical barrier using an in vitro apexification model. Eighteen single-rooted human teeth were used. To standardize root length, the crowns were sectioned and three millimeters of each root tip were removed. An artificial open apex was created in the teeth using Gates Glidden drills numbers 6-1 in a crown-down manner until the size 1 bur passed through the foramen. A divergent open apex was prepared to a size of 1,36 mm at the foramen by retrograde apical transportation using a # 40 Profile 0.6 taper instrument inserted to the length of the cutting blade. The teeth were irrigated with 5,25% NaOCl. Eight teeth were also irrigated with 17% EDTA, followed by NaOCl to remove the smear layer. The teeth were divided into four groups (n = 4) and a

further 2 teeth served as controls. Group I: MTA was placed as an apical barrier at a thickness of 5 mm without the removal of the smear layer; group II: MTA was placed with indirect ultrasonic activation; group III: the apical plug was placed after the removal of the smear layer without indirect ultrasonic activation and group IV: similar to group II with the previous removal of the smear layer. Each root was mounted on an aluminum stub and sputter-coated with gold for SEM examination. The distances between the MTA and cavity walls were measured at 12 predetermined points of the material/dentin interface (1000X). The ANOVA test was applied to the marginal adaptation data to detect differences between the experimental groups. Group IV had the lowest gap when compared to the others ( $p < 0.005$ ) and there was no statistical difference between groups I, II and III. The technique of insertion of the MTA using passive ultrasonic vibration associated with the removal of the smear layer improved the marginal adaptation of the material.

**Key-words:** Apexification. MTA. Scanning electron microscopy. Smear layer.

## REFERÊNCIAS

- AL-KAHTANI, A. *et al.* In vitro evaluation of microleakage of an orthograde apical plug of mineral trioxide aggregate in permanent teeth with simulated immature apices. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.31, n.2, p.117-119, Feb. 2005.
- BADR, A.E. Marginal Adaptation and Cytotoxicity of Bone Cement compared with Amalgam and Mineral Trioxide Aggregate as Root-end Filling Materials. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.6, p.1056-1060, June 2010.
- BIDAR, M. *et al.* Medication with Calcium Hydroxide Improved Marginal Adaptation of Mineral Trioxide Aggregate Apical Barrier. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.10, p.1679-1682, Oct. 2010.
- BORBA, M.G.; FACHIN, E.V.F. Avaliação do fechamento radicular em dentes com rizogênese incompleta. **Revista Odonto Ciência**, Porto Alegre, v.16, n.32, p.68-76, jan./abr. 2001.
- ÇOBANKARA, F.K.; OZKAN, H.B.; TERLEMEZ, A. Comparison of Organic Tissue Dissolution Capacities of Sodium Hypochlorite and Chlorine Dioxide. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.2, p.272-274, Feb. 2010.
- DE DEUS, G. *et al.* Similar expression of through-and-through fluid movement along orthograde apical plugs of MTA Bio™ and white Portland cement. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.41, n.12, p.1047-1053, Dec. 2008.
- FELIPPE, W.T.; FELIPPE, M.C.S.; ROCHA, M.J.C. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.39, n.1, p.2-9, Jan. 2006.

FIGUEIREDO, N.F. *et al.* Microscopia eletrônica de varredura da adaptação marginal de materiais retroobturadores: avaliação histoquantitativa. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v.65, n.1, p.90-95, jan./jun. 2008.

FRANK, A.L. Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. **Journal of American Dental Association**, Chicago, n.72, p.87-93, Jan. 1966.

GOLDMAN, M. *et al.* The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a SEM study: part two. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.8, n.11, p.487-492, Nov. 1982.

HACHMEISTER, D.R. *et al.* The sealing ability and retention characteristics of mineral trioxide aggregate in a model of apexification. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 28, n.5, p.386-390, May 2002.

HEITHERSAY, G.S. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless with associated pathology. **Journal of the British Endodontic Society**, London, v.8, n.2, p.74-91, July 1975.

HOLDEN, D.T. *et al.* Clinical outcomes of artificial root-end barriers with mineral trioxide aggregate in teeth with immature apices. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.37, n.7, p.812-817, July 2008.

KIM, U.S. *et al.* In vitro evaluation of bacterial leakage resistance of an ultrasonically placed mineral trioxide aggregate orthograde apical plug in teeth with wide open apices: a preliminary study. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontic**, St. Louis, v.107, n.4, p.52-56, Apr. 2009.

LAWLEY, G.R. *et al.* Evaluation of ultrasonically placed MTA and fracture resistance with intracanal composite resin in a model of apexification. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.30, n.3, p.167-72, Mar. 2004.

MADER, C. L.; BAUMGARTNER, J. C.; PETERS, D. D. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.10, n.10, p.477-483, Oct. 1984.

MARTIN, R.L. *et al.* Sealing properties of Mineral Trioxide Aggregate orthograde apical plugs and root fillings in an In Vitro model. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.33, n.3, p.272-275, Mar. 2007.

MORSE, D.R.; O'LARNIC, J.; YESILSOY, C. Apexification: review of the literature. **Quintessence International**, Illinois, v.7, n.21, p.589-598, July 1990.

SAGHIRI, M.A. *et al.* Scanning Electron Micrograph and Surface Hardness of Mineral Trioxide Aggregate in the Presence of Alkaline pH. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.35, n.5, p.706-710, May 2009.

SCHILDER, H. Filling root canals in three dimensions. **Dental Clinics of North America**, Philadelphia, v.11, n.6, p.723-744, Nov. 1967.

SCHILDER, H. Cleaning and shaping the root canal. **Dental Clinics of North America**, Philadelphia, v.18, n.2, p.269-296, Apr. 1974.

SIMON, S. *et al.* The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.40, n.3, p.186-197, Mar. 2007.

TORABINEJAD, M. *et al.* Comparative investigation of marginal adaptation of Mineral Trioxide Aggregate and other commonly used root-end filling materials. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.21, n.6, p.295-299, June 1995.

TORABINEJAD, M. *et al.* Clinical implications of the smear layer in endodontics: A review. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontic**, St. Louis, v.94, n.6, p.658–666, Dec. 2002.

YAMADA, R. S. *et al.* A Scanning Electron Microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: part three. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.9, n.4, p.137-142, Apr.1983.

YILDIRIM, T.; ORUÇOĞLU, H.; ÇOBANKARA, F.K. Long-term evaluation of the Influence of the Smear Layer on the Apical Sealing Ability of MTA. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 34, n.12, p.1537-1540, Dec. 2008.

WITHERSPOON, D. E. *et al.* Retrospective analysis of open apex teeth obturated with Mineral Trioxide Aggregate. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.34, n.10, p.1171-1176, Oct. 2008.

## ANEXO A- DECLARAÇÃO DE ORIGEM DOS DENTES

Declaro ao Comitê de Ética em Pesquisa da PUC/MG que eu Ana Cristina Carvalho de Araújo a fim de viabilizar a execução do meu Projeto de Pesquisa intitulado: Adaptação apical do MTA em dentes com rizogênese incompleta em função do modo de aplicação: estudo por microscopia eletrônica de varredura, obtive espécimes de dentes extraídos nas clínicas da PUC Minas sendo que os mesmos foram armazenados em solução de formaldeído 10%, sem identificação dos doadores.

Afirmo que a indicação da extração fundamentou-se em exames clínicos e/ou radiográficos, não tendo relação com o desenvolvimento da pesquisa científica.

As informações acima mencionadas são verdadeiras e de minha inteira responsabilidade, sendo que estou ciente das suas eventuais repercussões cíveis e penais.

Belo Horizonte, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

CRO: \_\_\_\_\_

**ANEXO B- APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Belo Horizonte, 10 de novembro de 2009

De: Profa. Maria Beatriz Rios Ricci  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

Para: Ana Cristina Carvalho de Araújo  
Programa de Mestrado em Odontologia

Prezado (a) pesquisador (a),

O Projeto de Pesquisa CAAE – 0162.0.213.000-09 “*Adaptação apical do MTA em dentes com rizogênese incompleta em função do modo de aplicação: estudo por microscopia eletrônica de varredura*” foi **aprovado** pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

Atenciosamente,

Profa. Maria Beatriz Rios Ricci  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa – PUC Minas

**ANEXO C – TABELA DAS MEDIDAS DOS GAPS POR GRUPO EXPERIMENTAL**

	<b>Grupo I</b>	<b>Grupo II</b>	<b>Grupo III</b>	<b>Grupo IV</b>	<b>Controle</b>
<b>1</b>	5,557	0,000	23,435	3,842	3,400
<b>2</b>	6,248	22,720	17,900	4,903	3,105
<b>3</b>	33,222	17,271	19,426	4,005	5,600
<b>4</b>	33,772	17,123	11,883	0,000	0,000
<b>5</b>	9,476	13,256	7,782	14,751	0,000
<b>6</b>	11,016	32,216	0,000	0,000	0,000
<b>7</b>	7,034	0,000	11,662	0,000	4,494
<b>8</b>	14,098	11,204	17,593	0,000	7,560
<b>9</b>	14,223	18,018	26,062	0,000	0,000
<b>10</b>	15,873	4,808	25,118	0,000	0,000
<b>11</b>	36,854	16,201	25,894	0,000	0,000
<b>12</b>	21,077	0,000	24,681	0,000	5,200
<b>13</b>	0,000	17,809	16,773	1,300	3,200
<b>14</b>	17,117	0,000	8,210	5,200	3,598
<b>15</b>	33,087	22,214	4,669	0,000	4,100
<b>16</b>	5,280	13,699	8,602	0,000	0,000
<b>17</b>	1,720	5,900	13,650	0,000	6,958
<b>18</b>	1,200	6,665	14,765	5,252	0,000
<b>19</b>	0,000	4,432	17,281	7,584	0,000
<b>20</b>	0,000	23,475	20,034	8,497	3,420
<b>21</b>	6,505	21,989	15,940	11,490	7,280
<b>22</b>	8,809	19,302	12,856	3,458	0,830
<b>23</b>	5,215	12,677	14,632	0,000	0,000
<b>24</b>	0,000	7,872	12,472	0,000	0,000
<b>25</b>	4,303	3,677	21,584	2,566	
<b>26</b>	0,000	6,997	19,487	4,580	
<b>27</b>	13,908	20,409	13,760	0,000	
<b>28</b>	0,000	7,529	17,945	0,000	
<b>29</b>	7,990	11,766	0,000	3,954	
<b>30</b>	12,657	16,411	3,930	4,988	
<b>31</b>	11,001	13,282	9,584	0,000	
<b>32</b>	9,362	12,175	5,849	0,000	
<b>33</b>	13,480	22,058	11,849	5,656	
<b>34</b>	22,380	24,868	23,851	7,258	
<b>35</b>	21,940	24,497	22,549	5,846	
<b>36</b>	6,923	5,200	25,948	3,699	
<b>37</b>	7,794	14,330	14,753	5,831	
<b>38</b>	5,910	21,754	27,084	0,000	
<b>39</b>	17,503	23,466	25,665	5,320	
<b>40</b>	29,880	19,766	7,895	3,843	
<b>41</b>	26,877	7,515	9,450	4,230	
<b>42</b>	27,223	7,230	12,735	5,389	
<b>43</b>	0,000	11,243	9,200	3,648	
<b>44</b>	13,987	5,309	11,401	8,158	
<b>45</b>	0,000	18,733	21,845	3,027	
<b>46</b>	9,534	17,114	26,010	0,000	
<b>47</b>	15,787	15,312	17,845	3,795	
<b>48</b>	8,909	3,870	11,095	10,591	