

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
Programa de Pós-graduação em Odontologia

Rogério Vieira Silva

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA EFETIVIDADE DA OBTURAÇÃO E
PENETRAÇÃO DENTINÁRIA DE UM NOVO CIMENTO ENDODÔNTICO:
estudo *ex-vivo* utilizando microscopia estéreo e confocal de varredura a laser**

Belo Horizonte

2012

Rogério Vieira Silva

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA EFETIVIDADE DA OBTURAÇÃO E
PENETRAÇÃO DENTINÁRIA DE UM NOVO CIMENTO ENDODÔNTICO:
estudo *ex-vivo* utilizando microscopia estéreo e confocal de varredura a laser**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação 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 – Ênfase: Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Nunes

Belo Horizonte

2012

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

S586a Silva, Rogério Vieira
Avaliação comparativa da efetividade da obturação e penetração dentinária de um novo cimento endodôntico: estudo *ex-vivo* utilizando microscopia estéreo e confocal de varredura a laser / Rogério Vieira Silva. Belo Horizonte, 2012.
65f.: il.

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

1. Cimentos dentários. 2. Microscopia confocal. 3. Obturação do canal radicular. I. Nunes, Eduardo. II. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

Dedico este trabalho a um ser humano maravilhoso, abençoado por Deus que me ensinou tudo na vida. A uma pessoa serena que sempre prezou pela paciência, ajuda ao próximo e pela fé. Tenho orgulho e privilégio de ser filho e ter convivido com ela durante 37 anos de minha existência terrena. A minha amada mãezinha Neuza Vieira Silva que partiu para a espiritualidade no dia 14 de Janeiro de 2012. Sei que estás muito feliz com mais um sonho realizado de seu filho. Te amo muito.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, pela oportunidade de ter saúde.

Aos meus familiares em especial o meu pai Rauldenis Silva, aos meus irmãos Mônica, Rauldenis Júnior, meus sobrinhos Serginho, Gabriel, Rachel, Raíssa e meus cunhados Graciela, Luiza e Serge.

Uma homenagem especial ao meu amado irmão Rodrigo Vieira Silva que não se encontra mais nesse plano terrestre. Obrigado pelo convívio, aprendizado nestes 35 anos. Fique em paz meu irmão querido.

Ao meu Orientador o Prof. Dr. Eduardo Nunes, pelos ensinamentos, paciência e dedicação comigo durante todos esses meses de curso. Obrigado por tudo mestre.

Ao Professor Dr. Frank Ferreira Silveira pelas palavras de incentivo e ensinamentos constantes.

A Professora Dra. Maria Ilma de Souza Gruppioni Cortes por despertar em mim mais uma vez o prazer pela pesquisa e pelos seus ensinamentos. Referência de profissional e de traumatismo dentário no Brasil.

Ao Professor Dr. Martinho Campolina Rebello Horta pela análise estatística deste estudo.

Aos Professores, atendentes das clínicas, os pacientes, os alunos de graduação e pós-graduação que me proporcionaram crescimento durante todo o meu estágio docente.

Aos colegas do Mestrado pela força durante o decorrer de todo curso.

As funcionárias do Mestrado Acadêmico Angélica e Sylvania pela prestatividade no decorrer do curso.

Ao Coordenador do Mestrado Acadêmico e grande mestre Professor Dr. Martinho Campolina Rebello Horta, pelos seus ensinamentos.

Ao Centro de Especialidades Odontológicas da Secretaria Municipal de Saúde de Vitória da Conquista (BA) na pessoa do Coordenador Dr. Marcílio Alves Ferraz pela liberação durante o decorrer de todo o curso.

Aos meus alunos e amigos Adriana, Nara, Thayse, Luísa, Mauro, Nirvânia, Roseli, Danielle e Sueli do I Curso de Especialização em Endodontia da Associação Brasileira de Odontologia Regional de Vitória da Conquista (BA), pelo apoio, força e empréstimo de materiais. Fonte de inspiração e vontade de querer sempre aprender e estudar a cada dia mais em minha vida.

Aos meus amigos, parceiros e Professores do NEVIC (Núcleo de Endodontia de Vitória da Conquista (BA), Renato Piai Pereira e Roberto Mendes pelo apoio, aprendizado e companheirismo).

Ao meu amigo Fagner Vilas Boas pela tradução do resumo para língua inglesa.

Ao meu amigo e irmão Dr. Artur José Santos Mascarenhas pelo auxílio na formatação deste estudo.

Ao meu amigo Alexandre Carvalho Ribeiro por todo o apoio que me deu na cidade de Belo Horizonte. Muito obrigado por tudo.

Aos meus grandes amigos Renata Oliveira Moreira da Silva e Wagner Ribeiro Aguiar que me dão forças e estão sempre ao meu lado em todos os momentos de minha vida.

As Empresas Dentsply Maillefer e Ângelus pela doação dos cimentos utilizados no experimento.

À Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB) da Universidade de São Paulo (USP) nas pessoas do Prof. Dr. Marco Antônio Húngaro Duarte, a funcionária do Centro Integrado de Pesquisa, Márcia Sirlene Jardim Graeff e o aluno de Doutorado Bruno Cavalini Cavenago que me proporcionaram a leitura do meu experimento através do microscópio confocal de varredura a laser e orientações sobre a minha pesquisa desenvolvida nessa Instituição de ensino tão respeitada.

À Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pela oportunidade que me foi dada e no qual fui bolsista no decorrer de todo o meu curso.

“A vida nem sempre segue no rumo que desejamos, raramente é fácil de ser vivida, mas deve ser considerada um presente divino, afinal, não há nada melhor, que alcançar nossos objetivos, depois de uma grande batalha, vencer a luta. Por isso, viva, aproveite o presente que lhe foi dado, enfrente o que for preciso. Sonhe, lute, conquiste e sorria, sorria sempre, dê valor e seja feliz.”

“Autor desconhecido”

RESUMO

Os cimentos endodônticos desempenham um importante papel na terapia endodôntica, auxiliando no selamento do sistema de canais radiculares (SCR), preenchendo istmos, ramificações, túbulos dentinários e áreas inacessíveis aos instrumentos endodônticos. Este estudo, *ex-vivo*, teve como objetivo, verificar a efetividade da obturação e capacidade de penetração de quatro cimentos endodônticos no interior dos túbulos dentinários, associado à técnica de obturação da Condensação vertical da guta percha termoplastificada. Foram selecionados 40 dentes unirradiculados, divididos em quatro grupos de 10 dentes cada. G1: AH Plus™, G2: Pulp Canal Sealer EWT™, G3: Sealapex™, G4: MTA Fillapex®. Após o preparo químico-mecânico e obturação, os dentes foram seccionados a 2, 4 e 6 mm do ápice radicular e analisados através de microscopia estéreo e confocal de varredura a laser. Os resultados foram tabulados e analisados estatisticamente. Em relação a presença de espaços vazios na obturação dos canais radiculares, não houveram diferenças estatisticamente significativas a 2 mm do ápice radicular dos quatro cimentos analisados, entretanto a 4 mm, houve significância estatística entre o AH Plus™ e MTA Fillapex® e entre Pulp Canal Sealer EWT™ e MTA Fillapex® e a 6 mm, houve significância estatística entre Pulp Canal Sealer EWT™ e MTA Fillapex® e Sealapex™ e MTA Fillapex®. Na penetração nos túbulos dentinários, não houve significância estatística a 2 mm do ápice radicular nos quatro cimentos analisados, contudo a 4 mm houve significância estatística entre os cimentos Pulp Canal Sealer EWT™ e MTA Fillapex® e a 6 mm entre os cimentos AH Plus™ e Pulp Canal Sealer EWT™. Os quatro cimentos endodônticos se mostraram satisfatórios e similares em relação a adaptação da obturação nas paredes dos canais radiculares, exceto o MTA Fillapex® que evidenciou falhas a 4 e 6 mm do ápice radicular. Os cimentos também tiveram um comportamento semelhante na capacidade de penetração e profundidade nos túbulos dentinários, exceto o Pulp Canal Sealer EWT™ que se mostrou inferior a 4 e 6 mm do ápice radicular comparado com MTA Fillapex® e AH Plus™ respectivamente.

Palavras chave: Cimentos dentários. Microscopia confocal a laser. Obturação do canal radicular.

ABSTRACT

The endodontic sealers play an important role in endodontic therapy, assisting in sealing the root canal system (RCS) in filling isthmuses, ramifications, dentinal tubules and areas inaccessible to endodontic instruments. This ex vivo study aimed to verify the effectiveness of the filling and penetration capacity of four endodontic sealers inside the dentinal tubules, associated with obturation technique of vertical condensation of gutta-percha thermoplasticized. 40 single-rooted teeth were selected and divided into four groups of 10 teeth each one. G1: AH Plus™, G2: Pulp Canal Sealer EWT™, G3: Sealapex™, G4: MTA Fillapex®. After chemomechanical preparation and filling, the teeth were sectioned at 2, 4 and 6 mm from the root apex and analyzed by stereo and confocal laser scanning microscopy. The results were tabulated and analyzed statistically. Regarding the presence of voids in root canal filling, there were no statistically significant differences to 2 mm from the apex of the four cements analyzed, although to 4 mm, statistical significance was found between the AH Plus™ e MTA Fillapex® and also between Pulp Canal Sealer EWT™ and MTA Fillapex® and to 6 mm, statistical significance was found between the Pulp Canal Sealer EWT™ and MTA Fillapex® and Sealapex™ and MTA Fillapex®. On penetration in the dentinal tubules there was no statistical significance to 2 mm from the root apex in the four sealers analyzed, however to 4 mm was statistical significance between Pulp Canal Sealer EWT™ and MTA Fillapex® sealers and to 6 mm between AH Plus™ and Pulp Canal Sealer EWT™ sealers. The four endodontic sealers were satisfactory and similar regarding the adaptation of the filling in the root canal walls, except the MTA Fillapex® one which showed failures to 4 and 6 mm from the root apex. The sealers also had a similar behavior in the capacity or both depth and penetration in the dentinal tubules, except Pulp Canal Sealer EWT™ that was inferior to 4 and 6 mm from the root apex compared with MTA Fillapex® and AH Plus™ respectively.

Keywords: Dental cements. Laser confocal microscopy. Root canal filling.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Seleção dos espécimes para o experimento.....	30
Figura 2: Grupos do experimento.....	31
Figura 3: Acondicionamento dos espécimes.....	31
Figura 4: Espécime fixado em torno.....	32
Figura 5: Motor elétrico e instrumentação do espécime.....	33
Figura 6: Irrigação com EDTA 17%.....	34
Figura 7: Ativação ultrassônica.....	34
Figura 8: Prova do cone dos espécimes.....	35
Figura 9: Utilização do Obtura II na fase back-fill.....	36
Figura 10: Obturações do SCR.....	36
Figura 11: Isomet 0,3mm.....	37
Figura 12: Lâmina com espécimes seccionados a 2, 4 e 6 mm do ápice radicular...38	
Figura 13: Microscópio Estéreo.....	38
Figura 14: Microscópio Confocal de Varredura a Laser.....	39
Figura 15: Imagens registradas no microscópio estéreo a 2 mm do ápice radicular.40	
Figura 16: Imagens registradas no microscópio estéreo a 4 mm do ápice do radicular.....41	
Figura 17: Imagens registradas no microscópio estéreo a 6 mm do ápice radicular.41	
Figura 18: Imagem registrada no microscópio estéreo evidenciando falha na obturação do canal radicular (círculo amarelo).....42	
Figura 19: Imagens registradas no microscópio confocal de varredura a laser a 2 mm do ápice radicular.....42	
Figura 20: Imagens registradas no microscópio confocal de varredura a laser a 4 mm do ápice radicular.....43	
Figura 21: Imagens registradas no microscópio confocal de varredura a laser a 6 mm do ápice radicular.....43	

Figura 22: Imagem registrada no microscópio confocal de varredura a laser com os 4 pontos padronizados para aferição linear44

Figura 23: Imagem registrada no microscópio confocal de varredura a laser a 6 mm do ápice radicular, evidenciando ramificação preenchida (seta amarela)44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CPC: Comprimento Patente do Canal

CT: Comprimento de Trabalho

EDTA: Ácido etilenodiamino tetracético

MCVL: Microscopia Confocal de Varredura a Laser

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

MTA: Agregado Trióxido Mineral

mL: Mililitro

mm: Milímetro

mm²: Milímetro quadrado

nm: Nanômetro

PUC: Pontifícia Universidade Católica

rpm: Rotações por minuto

SCR: Sistema de canais radiculares

USA: Estados Unidos da América

USP: Universidade de São Paulo

%: Porcentagem

#: Número

°C: Grau Celsius

x: Vezes

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	27
2 OBJETIVOS.....	29
2.1 Objetivo geral	29
2.2 Objetivo específico	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1 Critérios de inclusão e exclusão da amostra.....	30
3.2 Seleção da amostra.....	31
3.3 Critérios de padronização e instrumentação das raízes.....	32
3.4 Obturação do SCR	34
3.5 Análise dos dentes com utilização de microscopia estéreo e confocal de varredura a laser	37
3.6 Tabulação dos dados e análise estatística	39
4 ARTIGO	45
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
REFERÊNCIAS.....	62
ANEXO 01.....	64
ANEXO 02.....	65

1 INTRODUÇÃO

A causa mais frequente de periodontite apical é a infiltração de bactérias, oriundas de cáries e/ou fraturas corono-radiculares, podendo se instalar no complexo sistema de canais radiculares (SCR) e túbulos dentinários. Os microrganismos, juntamente com seus subprodutos são responsáveis pelo início e/ou manutenção de um processo inflamatório periapical (NAIR, 2004).

Diversas espécies bacterianas tem a propensão de penetrar profundamente no interior dos túbulos dentinários, destacando anaeróbios e facultativos, favorecendo a manutenção ou aparecimento de uma infecção endodôntica intratubular (LOVE, 1996; LOVE; JENKINSON, 2002; VIEIRA et al., 2012; VERA et al., 2012). Mesmo não exercendo o efeito direto sobre as bactérias presentes nos túbulos dentinários, o cimento endodôntico serviria como uma barreira, o que poderia evitar a replicação e até mesmo levar à sua inativação.

O preparo químico-mecânico dos canais radiculares é de fundamental importância para o sucesso clínico da terapia endodôntica, pois permite a antissepsia através da ação das substâncias químicas. O hipoclorito de sódio, além de ser agente bactericida, remover debris e restos orgânicos, reduz os níveis de microrganismos, favorecendo o processo de reparação dos tecidos periapicais (SIQUEIRA JÚNIOR; RÔÇAS, 2008).

O completo selamento do SCR é um desafio a ser atingido durante a terapia endodôntica, estando a qualidade da obturação diretamente relacionada ao preparo químico-mecânico. Esse deve ter como objetivo atuar em irregularidades anatômicas, curvaturas, istmos e ramificações. Tão difícil quanto limpar anatomias complexas, é preenchê-las, pois o propósito é selar tridimensionalmente toda a cavidade endodôntica (VENTURI, 2006).

Em relação aos materiais obturadores, duas propriedades importantes devem ser levadas em consideração: características físico-químicas e biocompatibilidade. A atividade antimicrobiana possivelmente tem um importante papel na eficácia de um cimento endodôntico durante a obturação. Entretanto, até o momento não se conseguiu reunir em um só produto, todas as propriedades almejadas de um cimento endodôntico ideal, sempre havendo prevalência de algumas propriedades sobre as outras (LOPES; SIQUEIRA JÚNIOR, 2010).

A excelência nas obturações dos canais radiculares também tem sido um desafio na clínica endodôntica. As técnicas que empregam guta-percha termoplastificada, apresentam uma melhor adaptação da obturação às paredes dentinárias, preenchendo, assim, detalhes anatômicos, bem como irregularidades consequentes de reabsorção interna e acidentes ocorridos durante a instrumentação dos canais radiculares, a exemplo de degraus, desvios e perfurações (LOPES; SIQUEIRA JÚNIOR, 2010).

Os cimentos endodônticos desempenham um importante papel, pois auxiliam no selamento da cavidade endodôntica, preenchendo reentrâncias, espaços irregulares, túbulos dentinários, áreas inacessíveis aos instrumentos, melhorando a adaptação da obturação nas irregularidades da interface dentina/material obturador (KOKKAS et al., 2004; ORSTAVIK, 2005). Além disso, pode apresentar efeitos antibacterianos em túbulos dentinários infectados (SALEH et al., 2004).

As propriedades físico-químicas dos cimentos influenciam sobremaneira o seu escoamento, fato esse de fundamental importância na qualidade do selamento radicular (BALGUERIE et al., 2011). Na prática endodôntica são usualmente utilizados cimentos à base de óxido de zinco e eugenol (ex: Pulp Canal Sealer™), cimentos resinosos (ex: AH Plus™), cimentos que contém hidróxido de cálcio (ex: Sealapex™). Recentemente foi lançado no mercado um promissor cimento: MTA Fillapex®.

Para averiguar a penetração dos cimentos endodônticos em túbulos dentinários, a microscopia confocal a laser é uma moderna ferramenta tecnológica (PATEL et al., 2007; CHANDRA; SHANKAR; INDIRA, 2012). Utiliza uma combinação de recursos de microscopia óptica, reunida a princípios de físico-química, computação para a aquisição e processamento de imagens. O sistema emprega uma fonte de laser para promover a excitação de fluoróforos. Os feixes de luz laser podem se difundir através da dentina, esmalte ou biofilmes, detectando sua estrutura interior e formando várias imagens em 2D (KAGAYAMA et al., 1999).

Esta pesquisa, *ex-vivo*, teve como objetivo, avaliar a efetividade da obturação do canal radicular e a capacidade de penetração nos túbulos dentinários dos cimentos endodônticos, AH Plus™, Pulp Canal Sealer EWT™, Sealapex™ e MTA Fillapex®, associado à técnica de obturação da Condensação vertical da guta percha termoplastificada, utilizando a estéreomicroscopia e confocal de varredura a laser.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar comparativamente a efetividade da obturação do canal radicular e capacidade de penetração dentinária de quatro cimentos endodônticos: AH Plus™, Pulp Canal Sealer EWT™, Sealapex™ e um novo cimento, MTA Fillapex®.

2.2 Objetivo específico

Avaliar a efetividade da obturação e capacidade de penetração dos cimentos AH Plus™, Pulp Canal Sealer EWT™, Sealapex™ e MTA Fillapex® nos túbulos dentinários a 2, 4 e 6 mm do ápice radicular.

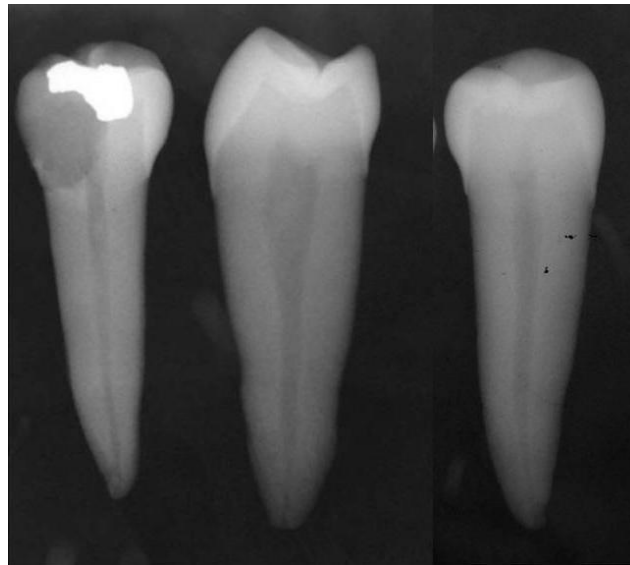
3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi encaminhado para análise e aprovação ao Comitê de Ética em Pesquisa da PUC Minas conforme modelo em anexo.

3.1 Critérios de inclusão e exclusão da amostra

Por meio de avaliação radiográfica, foram descartados dentes que apresentaram mais de um canal, rizogênese incompleta, reabsorções internas e externas, linhas de fratura, raízes curvas, canais obturados ou mesmo instrumentados. Também foram selecionados dentes com forames apicais e parapicais preservados e 14 mm mensurados da margem cervical ao ápice radicular (Fig.1).

Figura 1: Seleção dos espécimes para o experimento



Fonte: Autor

3.2 Seleção da amostra

Foram selecionados 40 dentes unirradiculados, cedidos pelo banco de dentes da PUC Minas. Através de exame clínico e radiográfico, foram divididos aleatoriamente em quatro grupos de 10 espécimes cada (Fig. 2).

Figura 2: Grupos do experimento



Fonte: Autor

Os espécimes foram armazenados em água destilada e hipoclorito de sódio a 2,5% na proporção de 10:1 (BRASIL, 2006) até o momento da padronização do comprimento, instrumentação e obturação dos canais radiculares (Fig. 3).

Figura 3: Acondicionamento dos espécimes



Fonte: Autor

3.3 Critérios de padronização e instrumentação das raízes

Todas as etapas foram realizadas por um único especialista em Endodontia, sendo que o mesmo foi calibrado em estudo piloto prévio à pesquisa.

Com auxílio de um disco de carburundum (SS White Artigos Dentários, Rio de Janeiro, Brasil) as coroas foram removidas ao nível da junção amelo-cemetária e as raízes cortadas na porção cervical de modo a padronizar o comprimento total em 14mm. Após a localização do canal radicular com a sonda endodôntica (Odous de Deus, Belo Horizonte, Brasil), os espécimes foram fixados em um torno (Destak, São Paulo, Brasil) (Fig.4), para facilitar a execução do procedimento operatório.

Figura 4: Espécime fixado em torno



Fonte: Autor

O comprimento patente do canal (CPC) foi determinado visualmente pela inserção de uma lima tipo K #10 (Maillefer, Ballaigues, Suíça) até o forame apical. O comprimento de trabalho (CT) foi aferido pela diminuição de 1mm aquém do forame apical. A instrumentação dos canais foi realizada pela Técnica coroa-ápice utilizando limas rotatórias Protaper Universal (Maillefer, Ballaigues, Suíça) até o instrumento F3, acoplada ao motor elétrico VDW Silver® Reciproc® (VDW, Munich, Alemanha) ilustrado na Fig.5.

Figura 5: Motor elétrico e instrumentação do espécime



Fonte: Autor

Utilizando agulha gauge 30 (Ultradent Products, South Jordan, USA), acoplada a seringa de 5 mL (Ultradent Products, South Jordan, USA) os canais foram irrigados a cada troca de instrumento com 1mL de solução de hipoclorito de sódio 5,25% (Lenza Farmacêutica, Belo Horizonte, Brasil), sendo utilizada lima de patência K#10 (Maillefer, Ballaigues, Suíça) também nos intervalos entre os instrumentos. Após a instrumentação, os dentes foram irrigados com 2 mL de EDTA 17% (Fórmula & ação, São Paulo, Brasil) por três minutos (Fig.6) e ativados por ponta ultrassônica ST-21 acoplada ao aparelho Enac™ na potência 4 (Osada, Tokyo, Japão) (Fig. 7). Em seguida, os canais foram irrigados novamente com 1mL de hipoclorito de sódio 5,25% e secos com pontas de papel absorvente Protaper F3 (Maillefer, Ballaigues, Suíça).

Figura 6: Irrigação com EDTA 17%



Fonte: Autor

Figura 7: Ativação ultrassônica



Fonte: Autor

3.4 Obturação do SCR

Os espécimes foram divididos em 4 grupos de 10 e obturados, utilizando os seguintes cimentos. G1: AH Plus™, G2: Pulp Canal Sealer™ EWT, G3: Sealapex™ e G4: MTA Fillapex®.

Foi realizada a prova do cone (Fig.8) e radiografias periapicais utilizando filme Ip-21 Insight adulto (Kodak, Rio de Janeiro, Brasil) com o objetivo de avaliar a sua correta posição e travamento no CT.

Os cimentos foram manipulados de acordo com as recomendações dos fabricantes. Para possibilitar a análise em microscopia confocal, o corante Rodamina B a 0,1% (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) foi aglutinado a cada cimento, segundo Ordinola-Zapata et al., 2009. Os mesmos foram inseridos na cavidade pulpar com lima #30 no CT, pincelando as paredes do canal. Além do mais, ao introduzir o cone principal F3 (Maillefer, Ballaigues, Suíça), o mesmo foi envolto pelo cimento.

Figura 8: Prova do cone dos espécimes



Fonte: Autor

Para a realização da obturação, foi empregada a Técnica de Condensação Vertical da guta-percha termoplastificada, com a utilização do termo compactador elétrico TOUCH'N HEAT (SybronEndo, Glendora, USA) e acoplado uma ponta de aço inoxidável médio do System B (SybronEndo, Glendora, USA) para execução da fase down-pack, removendo 7mm de obturação. A compressão foi realizada com auxílio dos condensadores manuais tipo Schilder (Odous de Deus, Belo Horizonte, Brasil) com numeração de 2 a 4. Para a realização da fase de back-fill foi utilizado o aparelho Obtura II™ (Corporation, Fenton, USA) (Fig. 9). Após este procedimento realizou-se tomada radiográfica para análise da obturação do SCR (Fig.10).

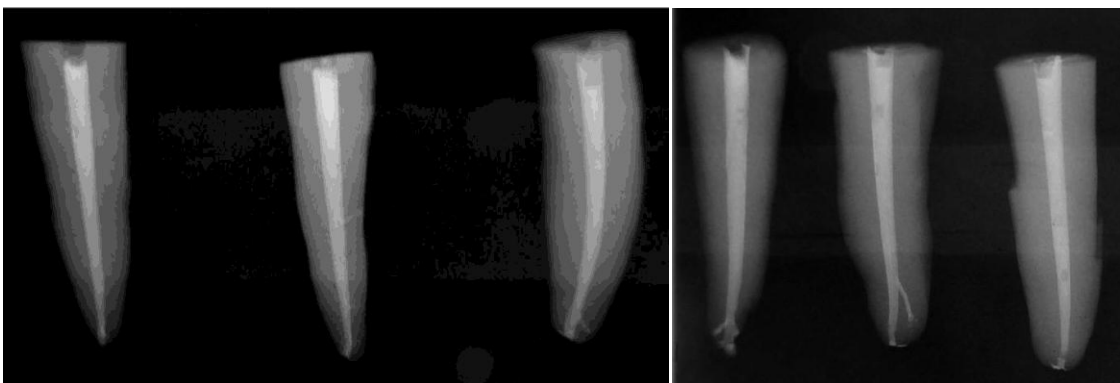
Figura 9: Utilização do Obtura II na fase back-fill



Fonte: Autor

A embocadura dos canais foi limpa com auxílio de bolinha de algodão embebida em álcool isopropílico. Após este procedimento os dentes foram selados com uma barreira de cimento provisório coltosol® (Vigodent, Bonsucesso, Brasil) e armazenados em estufa a 37°C e em condições adequadas de 90 a 95% de umidade por um período de 7 dias.

Figura 10: Obturações do SCR



Fonte: Autor

3.5 Análise dos dentes com utilização de microscopia estéreo e confocal de varredura a laser

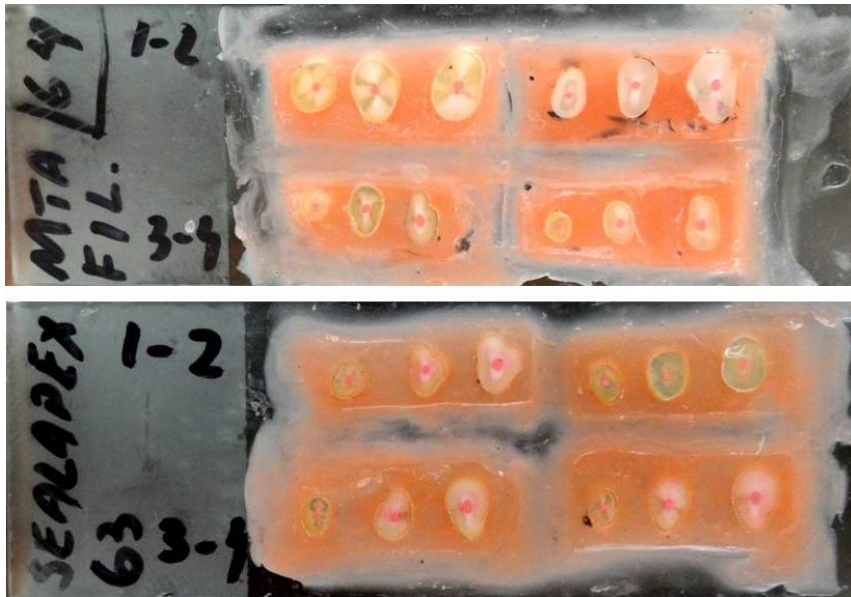
Após sete dias, os dentes foram seccionados usando um Isomet™ 0,3mm (Buehler Ltda, Illinois, USA) a 200 rpm (Fig.11) e uso contínuo de água sob refrigeração a 2, 4 e 6 mm do ápice radicular. Os segmentos de dentina foram inseridos em lâminas de vidro, previamente polidas com lixas de granulação progressiva 300,600 e 1200, com a respectiva identificação do cimento e do número do espécime analisado (Fig.12). Em seguida, as lâminas foram levadas para o microscópio estéreo (Fig.13) Stemi 2000C (Carl Zeiss, Jena, Alemanha) com o aumento de 8x, onde foram analisadas a qualidade das obturações e realizadas fotografias dos respectivos cortes, usando Câmera digital AxioCam MRc5. Foram examinadas também em um microscópio invertido Leica confocal de varredura a laser TCS-SPE (Leica, Mannheim, Alemanha) (Fig.14). As imagens foram processadas em um único plano focal, em 512x512 pixels, com aumento de 10x 0.30 e a excitação foi realizada com laser de diodo de 532nm. A emissão foi capturada entre 545 e 740 nm. Esta metodologia foi empregada por Ordinola-Zapata et al., 2009. Convém destacar nesta pesquisa que a Técnica de MCVL, fotografias no Microscópio estéreo e leitura do experimento foram realizadas na Faculdade de Odontologia de Bauru (USP) em parceria com a PUC Minas.

Figura 11: Isomet 0,3mm



Fonte: Autor

Figura 12: Lâmina com espécimes seccionados a 2, 4 e 6 mm do ápice radicular



Fonte: Autor

Figura 13: Microscópio Estéreo



Fonte: Autor

Figura 14: Microscópio Confocal de Varredura a Laser.



Fonte: Autor

3.6 Tabulação dos dados e análise estatística

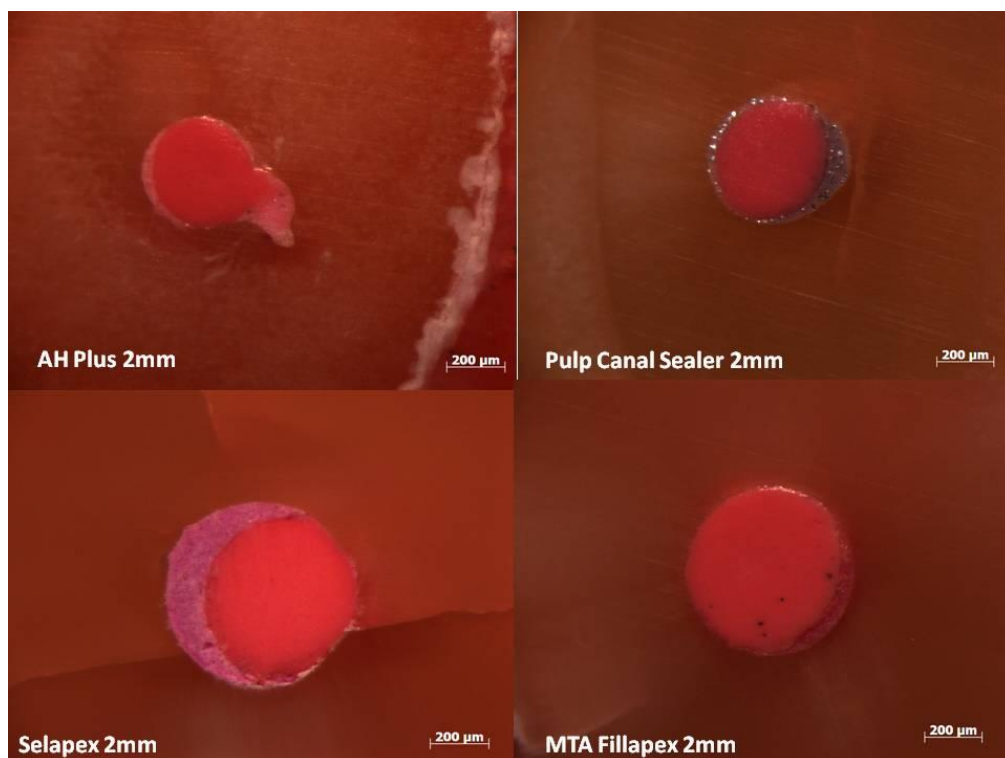
Após a análise na microscopia estéreo e confocal de varredura a laser, as imagens foram registradas e armazenadas em CD room. Para a análise, bem como a tabulação dos dados, foi utilizado o software Image J (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland). Para as imagens geradas no microscópio estéreo (Figs. 15, 16 e 17), foi calculada a área em mm^2 com o objetivo de calcular a circunferência total do canal radicular, a área preenchida por guta-percha, cimento e áreas onde tiveram falhas (Fig.18). Priorizou-se a mensuração comparativa das áreas preenchidas pelos espaços vazios remanescentes. Para as imagens geradas na microscopia confocal de varredura a laser (Figs. 19, 20 e 21), foram padronizados quatro pontos vestibular, lingual, mesial e distal em cada imagem (Fig. 22), baseado nas metodologias propostas por Bitter et al., 2004 e Gharib et al., 2007, sendo realizadas aferições lineares em micrometro de cada medida, somando-as e calculando a média entre elas. Após o cálculo de todas as medidas, as mesmas foram transferidas para uma planilha do Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, USA), onde foram tabuladas e encaminhadas para a análise estatística. Os testes D' Agostino e Pearson foram empregados para avaliar a normalidade dos dados. A variável “% de espaços vazios” exibiu distribuição não normal. Portanto o teste de Friedman seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn foi utilizado para avaliar diferenças nesta variável entre as regiões de cada cimento. Além disso,

o teste Kruskal-Wallis seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn foi utilizado para avaliar diferenças nesta variável entre cimentos em cada região.

A variável “penetração do cimento” exibiu uma distribuição normal. Consequentemente a análise do teste ANOVA dois critérios com repetição, seguido pelo teste post-hoc Bonferroni foi usado para avaliar diferenças nesta variável entre regiões de cada cimento. Em acréscimo a análise do teste ANOVA dois critérios seguido pelo teste post-hoc Bonferroni, foi também empregado para avaliar diferenças nesta variável entre cimentos em cada região.

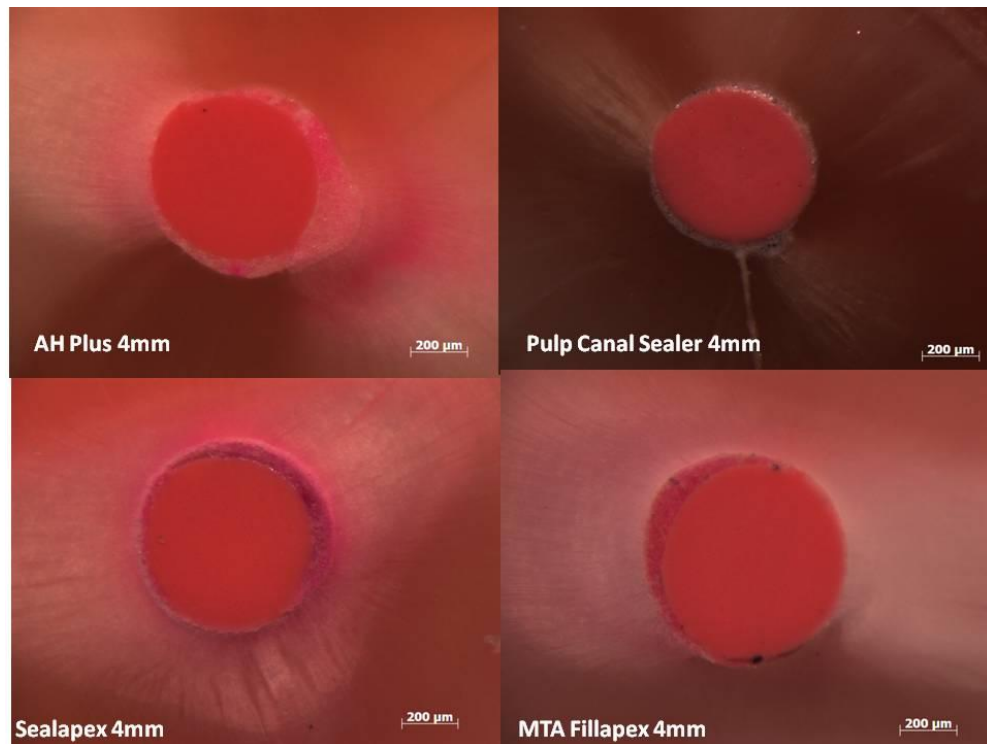
O nível de significância foi definido em 5%. Os testes foram realizados pelo GraphPad (GraphPad Software, San Diego, USA).

Figura 15: Imagens registradas no microscópio estéreo a 2 mm do ápice radicular



Fonte: Autor

Figura 16: Imagens registradas no microscópio estéreo a 4 mm do ápice do radicular



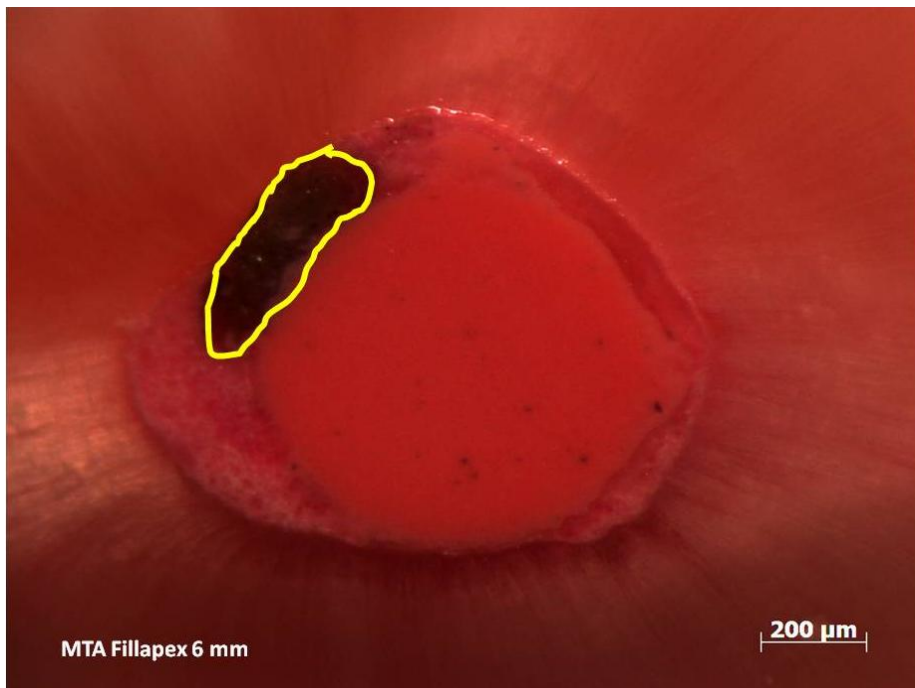
Fonte: Autor

Figura 17: Imagens registradas no microscópio estéreo a 6 mm do ápice radicular



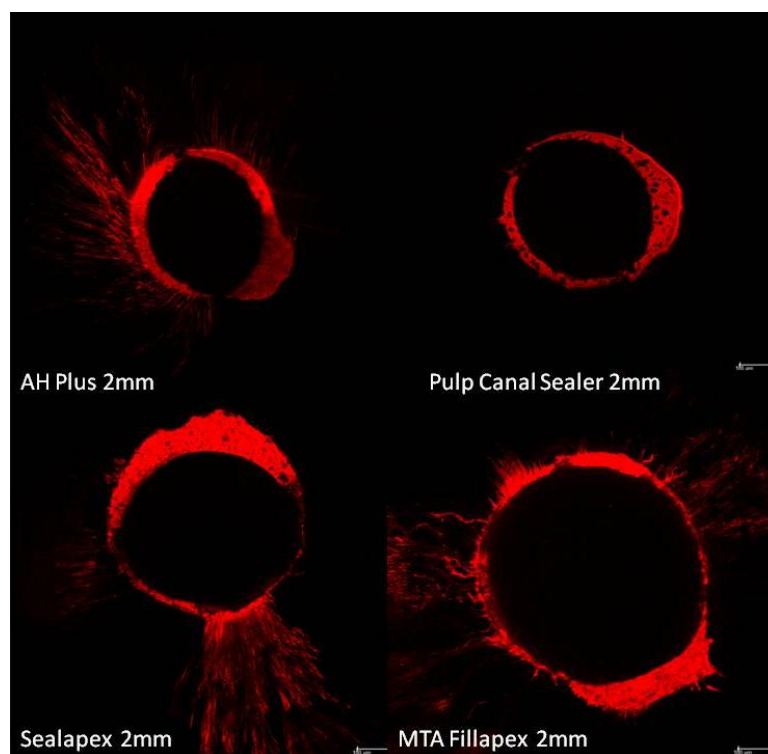
Fonte: Autor

Figura 18: Imagem registrada no microscópio estéreo evidenciando falha na obturação do canal radicular (círculo amarelo)



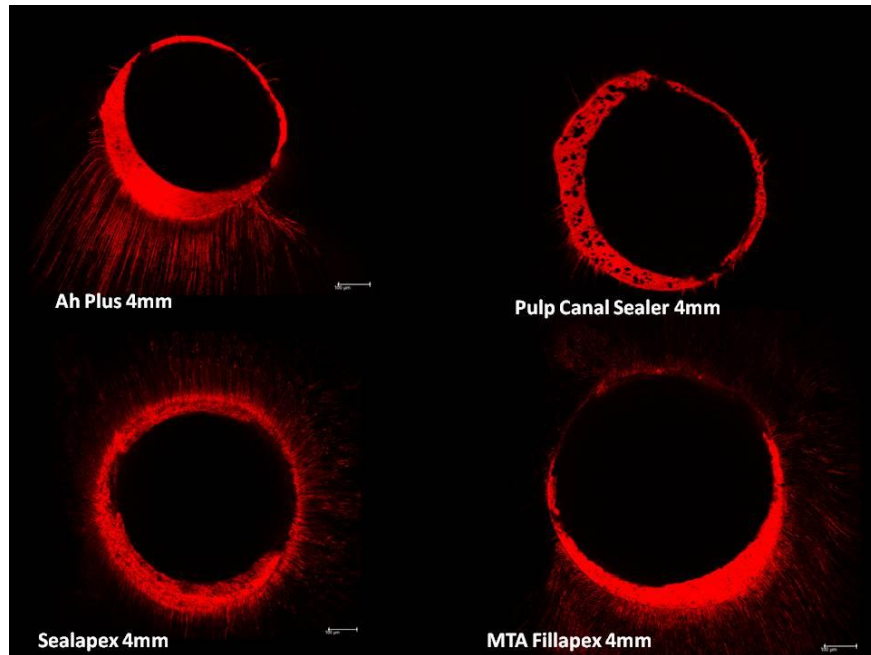
Fonte: Autor

Figura 19: Imagens registradas no microscópio confocal de varredura a laser a 2 mm do ápice radicular



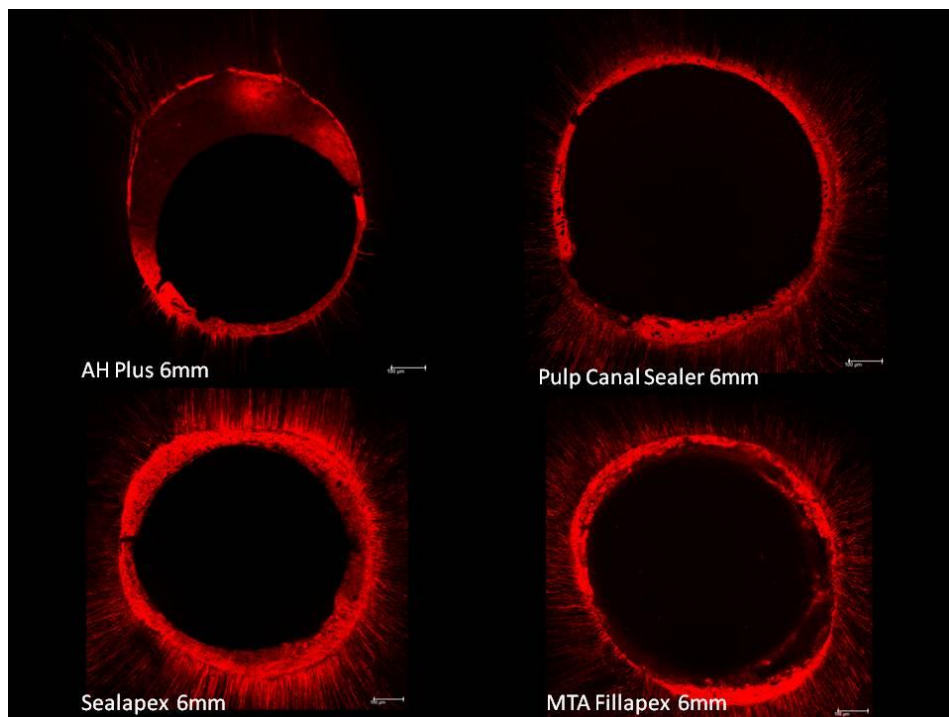
Fonte: Autor

Figura 20: Imagens registradas no microscópio confocal de varredura a laser a 4 mm do ápice radicular



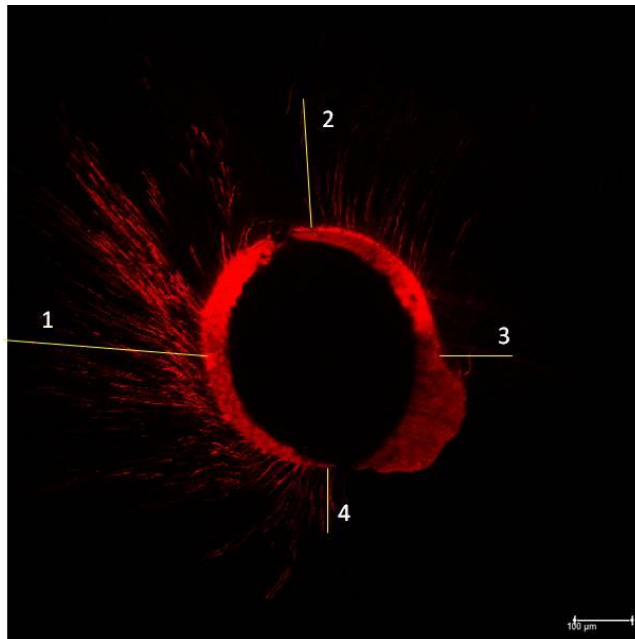
Fonte: Autor

Figura 21: Imagens registradas no microscópio confocal de varredura a laser a 6 mm do ápice radicular



Fonte: Autor

Figura 22: Imagem registrada no microscópio confocal de varredura a laser com os 4 pontos padronizados para aferição linear

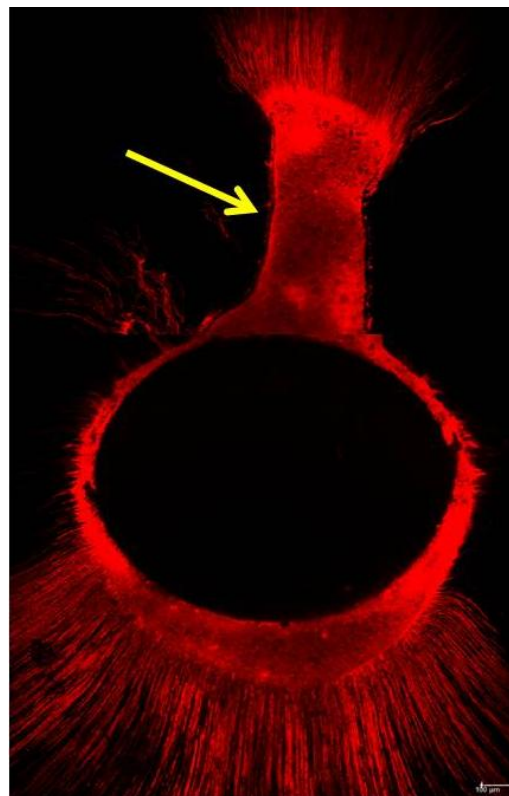


Quatro medidas:

- 1) Mesial;
- 2) Vestibular;
- 3) Distal;
- 4) Palatina

Fonte: Autor

Figura 23: Imagem registrada no microscópio confocal de varredura a laser a 6 mm do ápice radicular, evidenciando ramificação preenchida (seta amarela)



AH Plus 6mm

Fonte: Autor

4 ARTIGO

Será submetido para o Journal of Endodontics

COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF OBTURATION AND DENTINAL PENETRATION OF A NEW ENDODONTIC SEALER: *EX-VIVO* STUDY USING STEREO AND CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPY

Rogério Vieira Silva
Eduardo Nunes
Frank Ferreira Silva
Martinho Campolina Rebelo Horta
Marco Antônio Húngaro Duarte
Bruno Cavalini Cavenago
Ivaldo Gomes de Moraes

ABSTRACT

Introduction: Sealers play an important role in endodontic therapy, aiding the sealing of the system of root canals and dentinal tubules. This study was aimed at assessing the effectiveness of obturation and dentinal penetration of the sealers AH Plus™, Pulp Canal Sealer EWT™, Sealapex™, and MTA Fillapex® applied according to the vertical condensation technique using thermoplastic gutta-percha.

Methods: forty single-rooted teeth were selected. After chemical-mechanical preparation and root-canal filling, root apices (2, 4, 6 mm) were obtained and analysed by means of stereo confocal laser scanning microscopy. Data were tabulated and statistically analysed. **Results:** With regard to the assessment of void spaces in the obturation at 2 mm from the apex, the cements showed similar results, but at 4 and 6 mm from the apex, MTA Fillapex® had an inferior performance compared to AH Plus™/Pulp Canal Sealer EWT™ and Sealapex™/Pulp Canal Sealer EWT™, respectively ($P < 0.05$). With regard to the penetration into dentinal tubules at 2 mm from the apex, the sealers also showed similar results, but at 4 and 6 mm Pulp Canal Sealer EWT™ had an inferior performance compared to MTA Fillapex® and AH Plus™, respectively ($P < 0.05$). **Conclusions:** The four sealers were found to be similar regarding adaptation of the obturation to the root canal walls, except MTA Fillapex®, which showed failures at 4 and 6 mm from the root apex. With regard to the ability to penetrate into the dentinal tubules, the sealers

were found to be equivalent, except Pulp Canal Sealer EWT™ as it had poorer results at 4 and 6 mm compared to MTA Fillapex® and AH Plus™, respectively.

Keywords: Dental cements, laser confocal microscopy, Root canal filling.

INTRODUCTION

The most frequent cause of apical periodontitis is the bacterial infiltration resulting from caries and/or crown-root fractures, which can reach the system of root canals and dentinal tubules. Microorganisms, along with their by-products, account for the start and/or maintenance of the periapical inflammatory process (1).

Chemical-mechanical preparation of root canals is of fundamental importance for a successful clinical therapy, since it allows disinfection of the endodontic space through the action of chemical substances (e.g. sodium hypochlorite), which not only are bactericide agents but also remove debris and organic remnants, thus reducing the levels of microorganisms and favouring the process of periapical tissue repair (2).

Sealing the root canal system (RCS) completely is a challenge to be achieved during the endodontic therapy, since the quality of the obturation is directly related to the chemical-mechanical preparation, whose objective is to act on anatomical irregularities, curves, isthmi, and ramifications. Filling these complex anatomies is so difficult as cleaning them because the aim is to seal the entire endodontic cavity three-dimensionally (3).

Endodontic sealers play an important role as they aid to seal the endodontic cavity by filling re-entrances, irregular spaces and dentinal tubules, all areas inaccessible for endodontic instruments, thus improving the adaptation of obturation at the dentin-material interface (4-5). Penetration of endodontic sealers also presents advantages because they are biologically beneficial, having antibacterial effects on the infected dentinal tubules (6).

The flow of endodontic sealer is related to their physical-chemical properties as well as to a good root canal sealing at the moment of obturation (7). In general, eugenol-zinc oxide sealers (e.g. Pulp Canal Sealer EWT™), resin sealers (e.g. AH Plus™), calcium hydroxide sealers (e.g. Sealapex™), and MTA-based sealer (e.g. Fillapex®), this latter being recently launched in the market, are used in the endodontic practice.

This *ex-vivo* study was aimed at assessing the effectiveness of obturation and dentinal penetration of the endodontic sealers AH Plus™, Pulp Canal Sealer EWT™ and Sealapex™ and MTA Fillapex® according to the vertical condensation technique using thermoplastic gutta-percha. The resulting data were analysed by means of stereo confocal laser scanning microscopy.

MATERIAL AND METHODS

This study has been approved by the Human Research Ethics Committee of the Pontifical Catholic University of Minas Gerais (PUC Minas).

Inclusion and Exclusion Criteria

By means of radiographic evaluation, all teeth presenting more than one root canal, incomplete root formation, internal and external resorption, fracture lines, curved roots, or filled/instrumented canals were excluded. Moreover, only those teeth with apical and periapical foramina preserved and measuring 14 mm from cervical margin to root apex were selected.

Sample Selection

Forty single-rooted teeth were selected from the PUC Minas tooth bank. By means of radiographic and clinical exams, the teeth were divided into four groups of 10 specimens each and then stored in distilled water and 2.5% sodium hypochlorite at a 10:1 ratio until standardisation of root length, instrumentation, and obturation of root canals.

Criteria of Standardisation and Root Instrumentation

All the steps were performed by only one endodontic specialist, who had been previously trained in a pilot study prior to participating in the present research.

With the aid of carborundum disc (SS White Artigos Dentários, Rio de Janeiro, Brazil), the crowns were removed at the amelo-cementary junction and the roots were cervically sectioned in order to standardise the total length at 14 mm. After locating the root canal with endodontic probe (Odous de Deus, Belo Horizonte, Brazil), the specimens were fixed in a vice (Destak, São Paulo, Brazil) to facilitate the operating procedure.

The canal patency length (CPL) was visually determined by inserting a K#10 file (Maillefer, Ballaigues, Switzerland) until reaching the apical foramen. Working length (WL) was measured by subtracting 1-mm from the apical foramen. Canal instrumentation was performed according to the crown-apex technique by using rotary files (Protaper Universal - Maillefer, Ballaigues, Switzerland) before using F3 instrument mounted on electric motor (Silver Reciproc®, VDW, Munich, Germany).

By using a gauge 30 needle (*Ultradent Products*, South Jordan, USA) fitted onto a 5-mL syringe (*Ultradent Products*, South Jordan, USA), the canals were irrigated with 1 mL solution of 5.25% sodium hypochlorite (Lenza Farmacêutica, Belo Horizonte, Brazil) at every instrument change, with a K#10 file (Maillefer, Ballaigues, Switzerland) also being used for patency during this interval. After instrumentation, the teeth were irrigated with 2 mL solution of 17% EDTA (Fórmula & ação, São Paulo, Brazil) for 3 minutes and then activated with a ST-21 ultra-sonic tip fitted onto an Enac device (Osada, Tokyo, Japan) operating at potency 4. Next, the canals were irrigated again with 1mL solution of 5.25% sodium hypochlorite and dried with absorbent paper points (Protaper F3 - Maillefer, Ballaigues, Switzerland).

Obturation of the Root Canal System

The sample was divided into four groups of ten specimens, which were filled by using the following endodontic sealers: G1, AH Plus™ (Dentsply Maillefer, Germany); G2, Pulp Canal Sealer™ EWT (SybronEndo, Orange, USA); G3, Sealapex™ (SybronEndo, Orange, USA); and G4, MTA Fillapex® (Angelus®, Londrina, Brazil).

Cone proof and periapical radiographs were performed by using Ip-21 film (Kodak Insight, Rio de Janeiro, Brazil) in order to evaluate its correct filling position within the working length.

The sealers were manipulated according to the manufacturer's instructions. In order to allow the confocal microscopy analysis to be performed, rhodamine B dye at 1% (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) was incorporated into each cement. The sealers were then inserted into the pulp cavity with a #30 file used at the working length, painting the canal walls. Moreover, the F3 gutta-percha cone (Maillefer, Ballaigues, Switzerland) was introduced and involved in the sealer.

The vertical condensation technique using thermoplastic gutta-percha was performed for obturation with the aid of an electric heat-carrier device (Touch'n'heat, SybronEndo, Glendora, USA) fitted to the System B stainless steel tip (Touch'n'heat, SybronEndo, Glendora, USA) for the down-pack phase, where 7 mm of obturation was removed. Compression was performed by using Schilder condensers (Odous de Deus, Belo Horizonte, Brazil) with sizes ranging from 2 to 4. The backfill phase was performed by using the Obtura IITM device (Corporation, Fenton, USA), and then radiographs were taken for analysis of the obturation of the RCS.

Canal entry was cleaned with small cotton balls soaked with isopropyl alcohol. After this procedure, teeth were sealed with a temporary cement barrier (Coltosol, Vigodent, Bonsucesso, Brasil) and then stored in oven at 37°C under proper humidity conditions for a 7-day period.

Analysis of the Teeth with Stereo Confocal Laser Scanning Microscopy

After 7 days, the teeth were sectioned at 2, 4, and 6 mm from the root apex by using a 0.03-mm precision saw (Isomet, Buehler Ltd, Illinois, USA) operating at 300 rpm under continuous use of water for refrigeration. The dentin segments containing the cements were placed on glass slides, which was numbered and individually identified. Next, the slides were submitted to stereo microscopy (Stemi 2000C, Carl Zeiss Jena, Germany) at 8x magnification for analysis of the obturation quality, whereas photographs of the respective sections were taken by using an AxioCam MRc5 digital camera. The specimens were also observed with an inverted confocal laser scanning microscope (TCS-SPE, Leica, Mannheim, Germany). The images were processed from only one focal plane at 512 x 512 pixels at 10x/0.30 magnification, and laser diode excitation was achieved at 532 nm. Emission was captured between 545 and 740 nm.

Data Tabulation and Statistical Analysis

After analysis with stereo confocal laser scanning microscopy, the images were recorded in CD ROM. An Image J software (National Institutes of Health Bethesda, Maryland, USA) was used for both analysis and data tabulation. For the images generated by the stereo microscope, area values were calculated in mm² so that total circumference of root canal, area filled with gutta-percha and cement, and areas presenting failures could be calculated (Figure 1). Priority was given to

comparative measurement of areas filled with cement and remaining space voids. For visualisation of the cement penetration, images were generated by using confocal laser scanning microscopy (Figure 2). Buccal, lingual, mesial and distal points were established in each image based on the proposed methodologies (8-10), and linear gauge (in μm) of each measurement was made by adding and calculating the mean value between them (Figure 3). After calculating all the measurements, they were recorded in electronic sheets (Excell 2007, Microsoft Corporation, Redmond, USA) for statistical analysis.

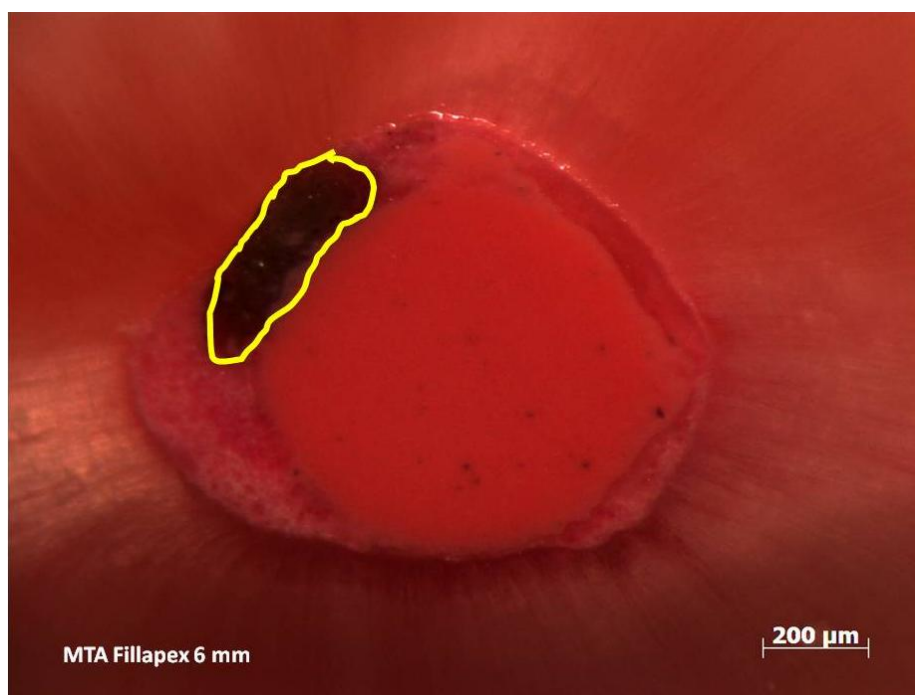
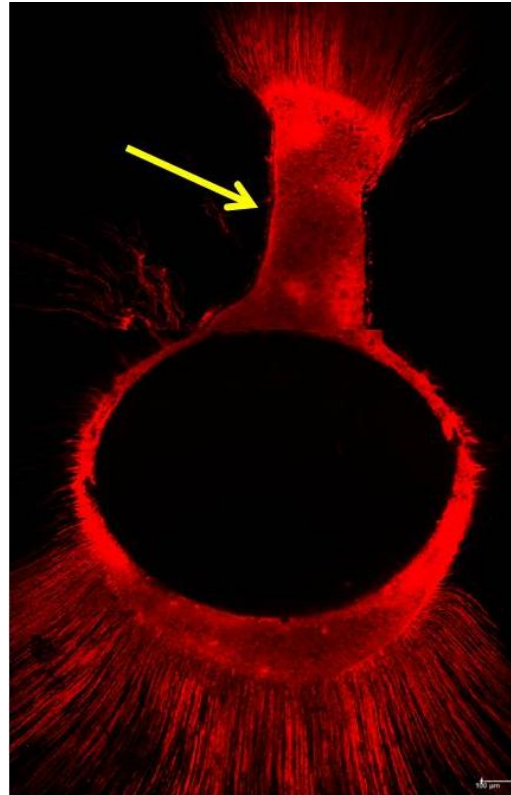
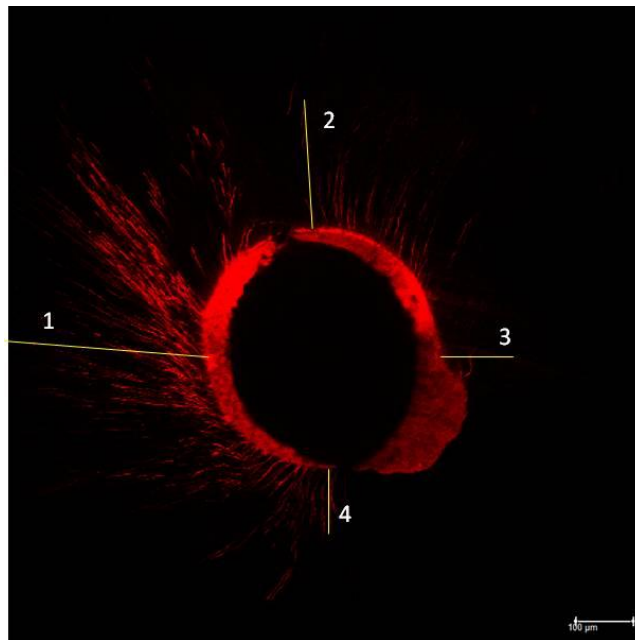


Figure 1. Stereo microscopic image showing failure in the root canal obturation (yellow circle).



AH Plus 6mm

Figure 2. Confocal microscopic image showing ramification filled at 6 mm from the root apex (yellow arrow).



Quatro medidas:

- 1) Mesial;
- 2) Vestibular;
- 3) Distal;
- 4) Palatina

Figure 3. Confocal microscopic image with the four points standardised for linear gauge. (1 = mesial; 2 = buccal; 3 = distal; 4 = palatine)

D'Agostino and Pearson tests were employed for assessment of data normality. The variable "percentage of space voids" showed non-normal distribution. As a result, the Friedman's test followed by Dunn's multiple comparison test was performed to assess differences in this variable between regions of each sealer. In addition, Kruskal-wallis test followed by Dunn's multiple comparison test was used to assess differences in this variable between sealers in each region.

The variable "sealer penetration" showed normal distribution. Consequently, repeated two-way ANOVA analysis followed by post-hoc Bonferroni's test was used to assess differences in this variable between regions of each sealer. In addition, the above-mentioned tests were also employed to assess differences in this variable between sealer in each region.

All the tests were performed by using GraphPad software (GraphPad Software, San Diego, USA) at significance level of 5%.

RESULTS

From the four endodontic sealers investigated, 40 sections were assessed at 2, 4, and 6 mm from the root apex, thus totalising 120 sections. Table 1 lists median, maximum and minimum values of the percentage of space voids found in the obturation of root canals. There was no statistically significant difference between the sealers at 2 mm from the root apex regarding the four points established (Friedman's test, $P > 0.05$), followed by the Dunn's multiple comparison test. However, at 4 mm from the root apex, there were statistical differences between AH Plus™ and MTA Fillapex® as well as between Pulp Canal Sealer EWT™ and MTA Fillapex® (Kruskal-Wallis test, $P < 0.05$), followed by the Dunn's multiple comparison test. At 6 mm from the root apex, there were also differences between Pulp Canal Sealer EWT™ and MTA Fillapex® as well as between Sealapex™ and MTA Fillapex® (Kruskal-Wallis test, $P < 0.05$), followed by the Dunn's multiple comparison test. With regard to the areas of each sealer, only MTA Fillapex showed statistically significant difference at 2 and 6 mm from the root apex (Friedman's test, $P < 0.05$), followed by the Dunn's multiple comparison test. Table 2 describes mean and standard deviation values for the penetration depth of the endodontic sealers into dentinal tubules. No statistically significant difference was found between the four endodontic sealers (two-way ANOVA test followed by post-hoc Bonferroni's test) investigated at 2 mm from the root apex, whereas statistically significant difference was observed between

Pulp Canal Sealer EWT™ and MTA Fillapex® at 4 mm from the root apex as well as between AH Plus™ and Pulp Canal Sealer EWT™ at 6 mm from the root apex.

Table 1. Median, minimum and maximum values for “percentage of spaces voids”.

Endodontic sealers	2 mm	4 mm	6 mm	<i>P value</i> ^A
AH Plus™	0 (0-2.33)	0 (0-4.11)	0 (0-6.62)	n.s. ^{1,2,3}
Pulp Canal Sealer EWT™	0 (0-0)	0 (0-3.33)	0 (0-14.52)	n.s. ^{1,2,3}
Sealapex™	0 (0-3.85)	0 (0-2.26)	0 (0-0.18)	n.s. ^{1,2,3}
MTA Fillapex®	0 (0-0)	8.76 (0-69.23)	10.03 (0-53.33)	<0.05 ² n.s. ^{1,3}
<i>P value</i> ^B	n.s. ^{4,5,6,7,8,9}	<0.05 ^{6,8} n.s. ^{4,5,7,9}	<0.05 ^{8,9} n.s. ^{4,5,6,7}	

^A *P* values obtained by using Friedman’s test followed by Dunn’s multiple comparison test.

^B *P* values obtained by using Kruskal-Wallis test followed by Dunn’s multiple comparison test.

n.s – non-significant

¹ 2 mm *versus* 4 mm

² 2 mm *versus* 6 mm

³ 4 mm *versus* 6 mm

⁴ AH Plus™ *versus* Pulp Canal Sealer EWT™

⁵ AH Plus™ *versus* Sealapex™

⁶ AH Plus™ *versus* MTA Fillapex®

⁷ Pulp Canal Sealer EWT™ *versus* Sealapex™

⁸ Pulp Canal Sealer EWT™ *versus* MTA Fillapex®

⁹ Sealapex™ *versus* MTA Fillapex®

Table 2. Mean and standard deviation values for “penetration of endodontic sealer”.

Endodontic sealers	2 mm	4 mm	6 mm	<i>P value</i> ^A
AH Plus™	83.07 ± 50.79	139.9 ± 70.19	196.4 ± 79.54	<0.05 ^{1,2,3}
Pulp Canal Sealer EWT™	47.79 ± 60.85	89.04 ± 66.71	103.3 ± 48.99	<0.05 ² n.s. ^{1,3}
Sealapex™	105.1 ± 63.24	139.8 ± 75.32	153.4 ± 67.59	n.s. ^{1,2,3}
MTA Fillapex®	99.22 ± 59.38	157.0 ± 50.87	163.6 ± 40.64	<0.05 ^{1,2} n.s. ³
<i>P value</i> ^B	n.s. ^{4,5,6,7,8,9}	<0.05 ⁸ n.s. ^{4,5,6,7,9}	<0.05 ⁴ n.s. ^{5,6,7,8,9}	

^A *P* values were obtained by using two-way ANOVA test, followed by post-hoc Bonferroni's test.

^B *P* values were obtained by using two-way ANOVA test, followed by post-hoc Bonferroni's test.

n.s – non-significant

¹ 2 mm *versus* 4 mm

² 2 mm *versus* 6 mm

³ 4 mm *versus* 6 mm

⁴ AH Plus™ *versus* Pulp Canal Sealer EWT™

⁵ AH Plus™ *versus* Sealapex™

⁶ AH Plus™ *versus* MTA Fillapex®

⁷ Pulp Canal Sealer EWT™ *versus* Sealapex™

⁸ Pulp Canal Sealer EWT™ *versus* MTA Fillapex®

⁹ Sealapex™ *versus* MTA Fillapex®

DISCUSSION

In the present study, the crowns were removed at the amelo-cementary junction (8, 10) and then cervically sectioned, leaving the root portion with total length of 14 mm in order to favour standardisation of all specimens, although coronal openings were regarded according to the conventional technique (9).

Chemical--mechanical preparation of all specimens was performed by only one investigator, including obturation, in order to minimise possible variations regarding especially the force applied with manual condensers, which might affect the liability of the results achieved in the present experiment.

In the present study, 17% EDTA solution was used to remove the smear layer, thus favouring the cleaning of both root canals and dentinal tubules. This procedure was found to be effective as obliteration of dentinal tubules can impede penetration of endodontic cements and compromise the sealing and quality of the final obturation (4,11,12).

Diverse bacterial species have the ability to penetrate deeply into the dentinal tubules, such as anaerobic and facultative ones (13-17). Despite not exerting a direct effect on the bacteria present in dentinal tubules, the endodontic sealer might serve as a barrier, which might avoid replication and even lead to their inactivation (18).

The thermoplastic techniques for obturation of the root canal system show a better adaptation regarding to the filling of the endodontic space, thus reproducing the internal canal anatomy in details as well as the homogeneity of the filling material, which minimises possible failures and contributes to a better three-dimensional sealing (19-21). These properties were important for selecting the technique to be used in the present study, although other authors employed the lateral condensation technique (10, 22).

Stereo microscopy is pointed out as an important tool to assess the obturation quality, since it is safe and shows details of the adaptation of gutta-percha and cement, including areas not filled adequately during endodontic therapy (23).

Flow and adhesiveness are essential properties in the choice of the endodontic sealer, since they promote the sealing of the root canal system. Flow allows adequate setting time and penetration of the sealer into the dentinal tubules, whereas adhesiveness allows the material to be kept onto the walls, thus aiding in the stability of the obturation. In view of this, endodontic cements are still inadequate (24).

Stereo confocal laser scanning microscopy was used in the present study to analyse the flow of endodontic sealers because it is a technology using a combination of resources of optical microscopy, physical-chemical principles and computing for acquisition and processing of images (10, 23, 25). The system uses a laser source to promote excitation of fluorophores. The beams of laser light can diffuse through the dentin, enamel and biofilms, thus detecting their inner structures and forming several two-dimensional images (26).

The technology of confocal laser scanning microscopy offers advantages (e.g. richness in detail) compared to the scanning electron microscopy, including histological evaluation and other methodologies for assessing the adaptation of endodontic sealers (10, 22). This technology can also be used in microbiological studies aimed at quantifying bacteria within dentinal tubules (27).

The sealers showed some results different from those regarding adaptation to the root canal walls and ability to penetrate into the dentinal tubules. The sealers had different chemical-physical properties in their composition, which might be related to the difference in some of their behaviours. The aim is to have minimum sealer thickness and most of the root canal circumference filled with gutta-percha, thus favouring adaptation of obturation as well as a deeper penetration of the endodontic cement into dentinal tubules and ramifications of the RCS (24, 28).

Pulp canal sealer™ was found to be statistically inferior than MTA Fillapex at 4 mm from the root apex and AH Plus™ at 6 mm from the root apex regarding depth and penetration into dentinal tubules. It is suggested that this finding is due to the presence of silver crystals in the chemical composition of the sealer, which on one hand allows excellent radiopacity but on the other hand can obliterate the opening of dentinal tubules, thus impeding or making it difficult the cement penetration.

Although endodontic sealers have shown similar results in some analyses, they did not penetrate the whole extension of the dentinal tubules. The deeper penetration of the sealer in all experimental groups was observed at 6, 4 and 2 mm from the root apex, in this order, which is in accordance with other studies (10, 12, 22). These observations can be due to the greater diameter of the dentinal tubules or lesser density of the dentin (29).

MTA Fillapex® was found to be statistically inferior compared to Pulp Canal Sealer and AH Plus at 4 mm from the root apex and to Pulp Canal Sealer at 6 mm from the root apex regarding the presence of space voids in the obturation. However, with regard to the ability to penetrate into the dentin tubules, this sealer presented satisfactory results compared to other sealer studied.

It is of fundamental importance to carry out further studies aimed at investigating other important properties and characteristics, always seeking to develop an endodontic sealer meeting the ideal characteristics to provide the practitioners with resources for obtaining success in their dental clinical practice.

CONCLUSIONS

One can conclude the following based on the findings obtained in the present study:

- a) The four endodontic sealers were found to be satisfactory and similar regarding adaptation of their obturation to the root canal walls, except the MTA Fillapex®, which showed failures at 4 and 6 mm from the root apex.
- b) The sealers also had a behaviour similar regarding their ability to deeply penetrate into the dentinal tubules, except the Pulp Canal Sealer EWT™, which was found to be inferior at 4 and 6 mm from the root apex compared to MTA Fillapex® and AH Plus™, respectively.
- c) None of the endodontic sealers studied was able to penetrate the whole extension of the dentinal tubules.

REFERÊNCIAS

1. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15:348-81.
2. Siqueira Jr., J.F.; rôças, I.N. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 2008;34:1291-301.
3. Venturi, M. Evaluation of canal filling after using two warm vertical gutta-percha compaction techniques in vivo: a preliminary study. *Int Endod J* 2006;39:538-46.
4. Kokkas, A.B; Boutsoukis, A; Vassiliadis, L.P; Stavrianos, C.K. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. *J Endod* 2004;30:100-02.
5. Orstavik, D. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. *Endod Top* 2005 ;12:25-38.
6. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Effectiveness of endodontic desinfecting solutions against young and old *Enterococcus faecalis* biofilms in dentin canals. *J Endod* 2012;38:1376-9.
7. Balguerie E, van der Sluis L, Vallaey K, Gurgel-Georgelin M, Diemer F. Sealer penetration and adaptation in the dentinal tubules: a scanning electron microscopic study. *J Endod* 2011;37:1576-9.
8. Bitter K, Paris S, Martus P, Schartner R, Kielbassa AM. A Confocal Laser Scanning Microscope investigation of different dental adhesives bonded to root canal dentine. *Int Endod J* 2004;37:840-8.
9. Gharib SR, Tordik PA, Imamura GM, Baginski TA, Goodell GG. A confocal laser scanning microscope investigation of the epiphany obturation system. *J Endod* 2007;33:957-61.
10. Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Graeff MS, del Carpio Perochena A, Vivan RR, Camargo EJ, et al. Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: a confocal laser scanning microscopy study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108:450-7.

11. Cruz-Filho AM, Sousa-Neto MD, Savioli RN, Silva RG, Vansan LP, Pécora JD. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *J Endod* 2011;37:358-62.
12. Weis MV, Parashos P, Messer HH. Effect of obturation technique on sealer cement thickness and dentinal tubule penetration. *Int Endod J* 2004;37:653-63.
13. Love RM. Regional variation in root dentinal tubule infection by *Streptococcus gordonii*. *J Endod* 1996;22:290-3.
14. Love, R.M, jenkinson, H.F. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13:171-83.
15. Vieira AR, Siqueira JF, Ricucci D, Lopes WS. Dentinal tubule infection as the cause of recurrent disease and late endodontic treatment failure: a case report. *J Endod* 2012;38:250-4.
16. Vera J, Siqueira JF, Ricucci D, et al. One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod* 2012;38:1040-52.
17. Zapata RO, Bramante CM, de Moraes IG, Bernardineli N, Gasparoto TH, Graeff MS, et al. Confocal laser scanning microscopy is appropriate to detect viability of *Enterococcus faecalis* in infected dentin. *J Endod* 2008;34:1198-201.
18. Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Ørstavik D. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro. *Int Endod J* 2004;37:193-8.
19. De-Deus G, Reis C, Beznos D, de Abranches AM, Coutinho-Filho T, Paciornik S. Limited ability of three commonly used thermoplasticized gutta-percha techniques in filling oval-shaped canals. *J Endod* 2008;34:1401-5.
20. Weller RN, Kimbrough WF, Anderson RW. A comparison of thermoplastic obturation techniques: adaptation to the canal walls. *J Endod* 1997;23:703-6.
21. Anantula K, Ganta AK. Evaluation and comparison of sealing ability of three different obturation techniques - Lateral condensation, Obtura II, and GuttaFlow: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2011;14:57-61.
22. Chandra SS, Shankar P, Indira R. Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: a confocal microscopic study. *J Endod* 2012;38:1412-6.
23. Chauhan R, Tikku A, Chandra A. Detection of residual obturation material after root canal retreatment with three different techniques using a dental operating microscope and a stereomicroscope: An in vitro comparative evaluation. *J Conserv Dent* 2012;15:218-22.
24. De-Deus G, Coutinho-Filho T, Reis C, Murad C, Paciornik S. Polymicrobial leakage of four root canal sealers at two different thicknesses. *J Endod* 2006;32:998-1001.
25. Patel DV, Sherriff M, Ford TR, Watson TF, Mannocci F. The penetration of RealSeal primer and Tubliseal into root canal dentinal tubules: a confocal microscopic study. *Int Endod J* 2007;40:67-71.
26. Kagayama M, Sasano Y, Sato H, Kamakura S, Motegi K, Mizoqushi I. Confocal microscopy of dentinal tubules in human tooth stained with alizarin red. *Anat Embryol* 1998;199:233-8.

27. Ma J, Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. A new noninvasive model to study the effectiveness of dentin disinfection by using confocal laser scanning microscopy. *J Endod* 2011;37:1380-5.
28. Wu MK, Wesselink PR, Boersma J. A 1-year follow-up study on leakage of four root canal sealers at different thicknesses. *Int Endod J* 1995;28:185-9.
29. Mjör IA, Smith MR, Ferrari M, Mannocci F. The structure of dentine in the apical region of human teeth. *Int Endod J* 2001;34:346-53.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O escoamento e a adesividade são propriedades essenciais na escolha do cimento obturador, pois promovem o selamento do sistema dos canais radiculares. O escoamento permite um tempo de presa adequado e a penetração nos túbulos dentinários; a adesividade permite a manutenção do material nas paredes auxiliando na estabilidade da obturação. Nesta perspectiva, os cimentos endodônticos ainda são inadequados (DE DEUS et al., 2006).

Diversas espécies bacterianas tem a propensão de penetrar profundamente nos interior dos túbulos dentinários, destacando anaeróbios e facultativos (LOVE, 1996; ZAPATA et al., 2008). Mesmo não exercendo o efeito direto sobre as bactérias presentes nos túbulos dentinários, o cimento endodôntico serviria como uma barreira, o que poderia evitar a replicação e até mesmo levar à sua inativação (SALEH et al., 2004).

Para avaliar a capacidade de penetração e profundidade nos túbulos dentinários, foi utilizada neste estudo a tecnologia da microscopia confocal de varredura a laser que oferece vantagens como a riqueza de detalhes em comparação com a microscopia eletrônica de varredura, avaliação histológica e outras metodologias para avaliar a adaptação dos cimentos endodônticos (ORDINOLA-ZAPATA et al., 2009; CHANDRA; SHANKAR; INDIRA, 2012).

Para avaliar a qualidade da obturação a estereomicroscopia é apontada como uma ferramenta importante, de grande destaque, segura e que exhibe detalhes da adaptação da guta percha, cimento e áreas que não foram preenchidas de uma forma adequada na terapia endodôntica (CHAUHAN; TIKKU; CHANDRA, 2012).

Em relação aos cimentos testados, o Pulp canal sealer EWT™ foi estatisticamente inferior a 4 mm do ápice radicular em relação ao MTA Fillapex e ao AH Plus e a 6 mm do ápice radicular em relação a profundidade e penetração nos túbulos dentinários. Pressupõe-se a esta diferença a presença na sua composição química de cristais de prata que permitem uma excelente radiopacidade, entretanto poderia está obliterando a entrada dos túbulos dentinários.

O MTA Fillapex® apresentou resultados estatisticamente inferiores comparados ao Pulp canal sealer e AH Plus a 4 mm e ao Sealapex a 6 mm do ápice radicular em relação a presença de espaços vazios na obturação. Em relação a capacidade de penetração nos túbulos dentinários, este cimento apresentou

resultados satisfatórios em comparação aos outros cimentos testados. Nenhum cimento foi capaz de penetrar em toda a extensão dos túbulos dentinários.

É de fundamental importância o desenvolvimento de novas pesquisas com o objetivo de investigar outras propriedades e características importantes, buscando sempre um cimento endodôntico que alcance características ideais e consequentemente forneça subsídios aos profissionais para obtenção de sucesso na prática clínica odontológica.

Dentro das condições experimentais deste trabalho, considerando-se os resultados obtidos, conclui-se que:

- a) os quatro cimentos endodônticos se mostraram satisfatórios e similares em relação a adaptação da obturação nas paredes dos canais radiculares, exceto o MTA Fillapex® que evidenciou falhas a 4 e 6 mm do ápice radicular;
- b) os cimentos também tiveram um comportamento semelhante na capacidade de penetração e profundidade nos túbulos dentinários, exceto o Pulp Canal Sealer EWT™ que se mostrou inferior a 4 e 6 mm do ápice radicular comparado com MTA Fillapex® e AH Plus™ respectivamente;
- c) nenhum cimento endodôntico testado foi capaz de penetrar em toda a extensão nos túbulos dentinários.

REFERÊNCIAS

- BALGUERIE, E.L. et al. Sealer penetration and adaptation in the dentinal tubules: a scanning electron microscopic study. **Journal of Endodontics**, v.37, n.11, p. 1576-1579, Nov. 2011.
- BITTER, K. et al. A Confocal Laser Scanning Microscope investigation of different dental adhesives bonded to root canal dentine. **International Endodontic Journal**, v.37, n.12, p. 840-848, Dec. 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Serviços Odontológicos: Prevenção e Controle de Riscos** / Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 108p.
- CHANDRA, S.S.; SHANKAR, P.; INDIRA, R. Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: a confocal microscopic study. **Journal of Endodontics**, v.38, n.10, p.1412-1416, Oct. 2012.
- CHAUHAN, R.; TIKKU, A.; CHANDRA, A. Detection of residual obturation material after root canal retreatment with three different techniques using a dental operating microscope and a stereomicroscope: An in vitro comparative evaluation. **Journal Conservative Dentistry**, v.15, n.3, p. 218-222, July 2012.
- DE DEUS, G. et al. Penetração intratubular de cimentos endodônticos. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v.16, n.4, p. 332-336, dez. 2002.
- DE DEUS, G. et al. Polymicrobial leakage of four root canal sealers at two different thicknesses. **Journal of Endodontics**, v.32, n.10, p. 998-1001, Oct. 2006.
- GHARIB, S.R. et al. A confocal laser scanning microscope investigation of the epiphany obturation system. **Journal of Endodontics**, v.33, n.8, p. 957-961, Aug. 2007.
- KAGAYAMA M. et al. Confocal microscopy of dentinal tubules in human tooth stained with alizarin red. **Anatomy Embryology**, v.199, n.3, p. 233-238, Mar. 1999.
- KOKKAS, A.B. et al. The influence of the smear layer on dentinal tubules penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. **Journal of Endodontics**, v.30, n.2, p. 100-102, Feb. 2004.
- LOPES, H.P., SIQUEIRA JÚNIOR, J.F. **Endodontia - Biologia e Técnica**. 3. ed. São Paulo: Guanabara Koogan. 2010, 968p.
- LOVE, R.M. Regional variation in root dentinal tubule infection by *Streptococcus gordonii*. **Journal of Endodontics**, v.22, n.6, p. 290-293, June 1996.
- LOVE, R.M.; JENKINSON, H.F. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. **Journal of Endodontics**, v.13, n.4, p. 171-183, Apr. 2002.

NAIR, P.N. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, v.15, n.6, p. 348-381, June 2004.

ORDINOLA-ZAPATA, R. et al. Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: a confocal laser scanning microscopy study. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology**, v.108, n.3, p.450-457, Sept. 2009.

ORSTAVIK, D. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. **Endodontic Topics**, v.12, p. 25-38, Dec. 2005.

PATEL, D.V. et al. The penetration of RealSeal primer and Tubliseal into root canal dentinal tubules: a confocal microscopic study. **International Endodontic Journal**, v.40, n.1, p. 67-71, Jan. 2007.

SALEH, I.M. et al. Survival of Enterococcus faecalis in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro. **International Endodontic Journal**, v.37, n.3, p. 193-198, Mar. 2004.

SIQUEIRA JÚNIOR, J.F.; RÔÇAS, I.N. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. **Journal of Endodontics**, v.34, n.11, p. 1291-1301, Nov. 2008.

VENTURI, M. Evaluation of canal filling after using two warm vertical gutta-percha compaction techniques in vivo: a preliminary study. **International Endodontic Journal**, v.39, n.7, p. 538-546, July 2006.

VERA, J. et al. One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. **Journal of Endodontics**, v.38, n.8, p. 1040-1052, Aug. 2012.

VIEIRA, A.R. et al. Dentinal tubule infection as the cause of recurrent disease and late endodontic treatment failure: a case report. **Journal of Endodontics**, v.38, n.2, p. 250-254, Feb. 2012.

ZAPATA, R.O. et al. Confocal laser scanning microscopy is appropriate to detect viability of Enterococcus faecalis in infected dentin. **Journal of Endodontics**, v.34, n.10, p. 1198-1201, Oct. 2008.

ANEXO 01

Belo Horizonte, 12 de Dezembro de 2011.

A

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Vimos por meio desta, justificar a não apresentação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido relacionado ao Projeto de Pesquisa intitulado **AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA EFETIVIDADE DA OBTURAÇÃO E PENETRAÇÃO DENTINÁRIA DE UM NOVO CIMENTO ENDODÔNTICO: ESTUDO EX-VIVO UTILIZANDO MICROSCOPIA ESTÉREO E CONFOCAL DE VARREDURA A LASER**, parte do Programa de Mestrado em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Área de concentração: Clínicas Odontológicas, Ênfase: Endodontia.

O presente projeto de pesquisa será realizado com uma amostra de 40 dentes pré molares inferiores humanos, que serão cedidos pelo Banco de Dentes Humanos desta Instituição.

Sendo o que se apresenta para o momento,

Rogério Vieira Silva
Mestrando - Pesquisador

Eduardo Nunes
Orientador

ANEXO 02

Belo Horizonte, 12 de abril de 2012

De: Profa. Cristiana Leite Carvalho
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

Para: Rogério Vieira Silva
Programa de Pós-graduação em Odontologia

Prezado (a) pesquisador (a),

O Projeto de Pesquisa CAAE – 0402.0.213.000-11 “*Avaliação comparativa da penetração dentinária de um novo cimento endodôntico: estudo ex-vivo utilizando microscopia confocal de varredura a laser*” foi **aprovado** pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUC Minas.

Informamos que, por solicitação da CONEP/MS – Carta Circular 003/2011 –, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deverá conter rubrica do sujeito da pesquisa ou seu representante (se for o caso) e rubrica do pesquisador responsável em todas as folhas, além das assinaturas na última página do referido Termo.

Atenciosamente,

Profa. Cristiana Leite Carvalho
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa