RONISE FERREIRA

**ANÁLISE *IN VITRO* DA PENETRAÇÃO DO CORANTE AZUL-
DE-METILENO NA DENTINA RADICULAR HUMANA VARIANDO-SE
O MÉTODO DE IMPREGNAÇÃO**

São Paulo

2006

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Ferreira, Ronise

Análise in vitro da penetração do corante azul-de-metileno na dentina radicular humana variando-se o método de impregnação/ Ronise Ferreira; orientador Antonio Carlos Bombana. -- São Paulo, 2006.

110p.; fig., tab.; 30 cm.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Endodontia) -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Azul de metileno – Dentina – Infiltração 2. Endodontia

CDD 617.6342
BLACK D24

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADO AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail: ronise@viavale.com.br

Ronise Ferreira

Análise *in vitro* da penetração do corante azul-de-metileno na dentina radicular humana variando-se o método de impregnação

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Bombana

São Paulo

2006

FOLHA DE APROVAÇÃO

Ferreira R. Análise *in vitro* da penetração do corante azul-de-metileno na dentina radicular humana variando-se o método de impregnação [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

São Paulo, ____/____/____

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a)._____

Titulação_____

Julgamento_____ Assinatura_____

2) Prof(a). Dr(a)._____

Titulação_____

Julgamento_____ Assinatura_____

3) Prof(a). Dr(a)._____

Titulação_____

Julgamento_____ Assinatura_____

4) Prof(a). Dr(a)._____

Titulação_____

Julgamento_____ Assinatura_____

5) Prof(a). Dr(a)._____

Titulação_____

Julgamento_____ Assinatura_____

“... talvez não haja maior alegria na vida do que encontrarmos meios para vencer nossas fraquezas. Nós todos conhecemos a embriaguez da vitória e a agonia da derrota.

Encontramos obstáculos e mais obstáculos. Contudo, com esperança, dignidade, um pouco de loucura e alguma crença em nós mesmos, podemos dar grandes passos na conquista dos nossos objetivos.

O fracasso maior é não tentar.

Muitos, com certeza, desistiram quando com um pouco mais de paciência teriam chegado lá.

“Quase sempre, quando tudo parece perdido, quando tudo indica fracasso, neste momento abre-se o caminho...”.

Léo Buscaglia.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meus pais Angelina e Brasil (*in memoriam*).

Graças a seus esforços pessoais na minha educação me proporcionaram esse momento. A família, o amor, o caráter e a dignidade pessoal como os principais alicerces da vida.

Difícil é expressar o sentimento de agradecimento e amor quando não se encontram mais fisicamente em minha vida, porém a luz espiritual de suas presenças faz parte dessa trajetória.

Muito obrigada.

AGRADECIMENTOS

A DEUS,

“Aquele que nos compreende muito mais do que podemos entender. Ao criador do Céu, da Terra e de tudo que há. Ele enxuga as lágrimas do nosso rosto, enquanto cobre nossa alma de carinho e consolo. Ao nosso melhor amigo... que sempre esteve e estará a nos conduzir, muito obrigado”.

A minha família

Pelo amor, força pessoal e zelo nas maiores dificuldades.

Um agradecimento muito especial ao meu orientador
Professor Dr. Antonio Carlos Bombana.

Professor Bombana,

Expressar a minha gratidão em palavras talvez deixe sentimentos verdadeiramente importantes de fora nesse momento. Agradeço a oportunidade de ter convivido com você, não apenas por teres orientado este trabalho com a dedicação e apreço que lhe são peculiares, mas pela oportunidade de ter conhecido a pessoa maravilhosa que és. Saiba que hoje ocupa um lugar muito especial no meu coração. És um grande e digno MESTRE e tens a minha mais profunda admiração.

Meu agradecimento aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração em Endodontia da FOUSP, pelos ensinamentos transmitidos.

Prof. Dr. Abílio Albuquerque Maranhão de Moura

Prof. Dr. Carlos Eduardo Aun

Prof. Dr. Celso Caldeira

Prof. Dr. Giulio Gavini

Prof. Dr. Igor Prokopowitsch

Prof. Dr. José Luis Lage-Marques

Prof. Dr. Manuel Eduardo de Lima Machado

Prof^a. Dra. Márcia Martins Marques

Agradeço em especial:

Ao **Prof. Dr. João Humberto Antoniazzi**, pela carinhosa acolhida e por ter me proporcionado à oportunidade de cursar a Pós-graduação nessa Instituição. Agradeço seus ensinamentos com muito carinho a essa pessoa tão especial que tive a oportunidade de conviver.

**Prof. Dr. Marcelo dos Santos, Prof. Dr. Rielson José Alves Cardoso
e Prof^a. Dra. Mary Caroline Skelton Macedo,**

que acompanharam meus passos iniciais na docência. A vocês agradeço parte da conquista deste trabalho. Pessoas extremamente especiais na minha vida não somente como educadores, mas como grandes amigos. Tenham certeza do meu carinho, gratidão e respeito.

Prof. Dr. Fernando Branco Barletta,

pelo grande incentivo para cursar a Pós-graduação na FOU SP. No decorrer dessa convivência conheci não somente um colega de trabalho, mas um grande e especial amigo. Muito obrigado por tudo que fizeste por mim.

Prof. Isaac Jamil Sayeg do Laboratório de Petrografia Sedimentar da USP pelo auxílio na parte experimental.

A todos os funcionários do Departamento de Dentística da FOU SP, em particular à Neuza, ao Luizinho, Aldo e Ana Maria pela agradável convivência e carinhosa acolhida.

Aos colegas da Pós-graduação da FOU SP,

Adriana, Crys, Cláudia, Karina, Julieta, Luis Guilherme e Carmen.

A convivência foi nos aproximando e tornou-se uma bonita e carinhosa amizade.

Sinto muitas saudades de todos vocês.

Ane,

A você querida amiga, o meu especial agradecimento.

Desse convívio nasceu uma linda amizade, testada pelas dificuldades e pressões do dia a dia em SP e alicerçada nos chimarrões e confidências diárias. Tenho certeza que sozinhas não teríamos conseguido chegar ao final. Obrigado por tudo.

Aos colegas da UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL:

Disciplina de Endodontia, Márcia, Daniel e Fernando.

A Rosi, que sempre me transmite muita paz e alegria, me ajudando a pensar positivo e seguir em frente, meu carinhoso agradecimento.

Ao funcionário Gustavo Motta Ferreira pela gentileza e auxílio na parte experimental.

Ao Prof. Dr. Irionson Bassani e ao aluno César do curso de Engenharia de Produção pelo auxílio na parte experimental.

Aos funcionários e bibliotecárias do Serviço de Documentação Odontológica da FOU SP pela atenção em todo decorrer deste trabalho e na revisão final do mesmo.

RESUMO

Ferreira R. Análise *in vitro* da penetração do corante azul-de-metileno na dentina radicular humana variando-se o método de impregnação [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

RESUMO

Frente às inúmeras críticas que as metodologias de infiltração que se valem do uso de corantes têm enfrentado nos últimos decênios, o presente estudo buscou avaliar se diferentes métodos de contato com a solução de azul-de-metileno a 0,5%, têm influência ou não, na leitura da marcação propiciada por esse agente traçador na dentina radicular de dentes humanos. Propusemo-nos a analisar 6 diferentes métodos: a agitação do corante com uso do ultra-som Gnatus, a agitação com o ultra-som de limpeza, a imersão passiva, o uso de vácuo calibrado para 25 mmHg por 10 minutos e a imersão passiva, vácuo calibrado para 30mmHg e o vácuo calibrado de 650 mmHg. Para tal, foram utilizadas 60 raízes de dentes unirradiculares infiltradas pela solução de azul-de-metileno a 0,5% com pH 7 por 24 horas. Os espécimes foram clivados no sentido apico-cervical em hemipartes e seu canal preenchido com pasta Lysanda. Utilizou-se um analisador do tipo Q 550 IW da marca *Leica Qwin* no qual se montou uma rotina para a aquisição das imagens. Na seqüência, montou-se uma segunda rotina trabalhando com a imagem já adquirida de forma a se detectar os diferentes níveis de azul constante na cor da amostra, editada pelo operador de forma a demarcar as projeções da área de infiltração em milímetros quadrados. Os resultados foram tratados estatisticamente e, em relação as diferentes formas de impregnação ao considerarmos o experimento globalmente, nenhuma condição experimental foi melhor do que a outra no impregnar do corante

azul-de-metileno em dentina humana tratada. Ao compararmos os diferentes métodos de impregnação do corante azul-de-metileno entre os terços radiculares isoladamente resultou na existência de significância dos resultados no terço cervical, onde o vácuo calibrado para 30 mm Hg foi superior ao ultra-som Gnatus e ao vácuo calibrado para 25 mm Hg e, no terço médio onde a imersão passiva mostrou-se superior nos resultados quando comparada ao ultra-som Gnatus. Em relação ao terço apical nenhuma condição experimental mostrou significância nos resultados. Quando a análise deu-se entre os diferentes terços, os terços cervical e médio não apresentaram diferenças, enquanto que, entre os terços cervical e apical e entre os terços médio e apical houve diferença estatisticamente significativa nos resultados.

Palavras-Chave: Azul-de-metileno - Corante - Permeabilidade dentinária - Metodologia

ABSTRACT

Ferreira R. An in vitro analysis of the methylene blue dye penetration in human radicular dentin with different methods of impregnation [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

ABSTRACT

The purpose of this investigation was to evaluate how different contact methods of methylene blue dye solution 0, 5%, pH 7 for 24 hours, have influenced, in the reading of the demarcation leakage by tracer agent on the root dentin of human teeth. This study assesses 6 different methods: the dye agitation using the ultrasonic Gnatus, the agitation with the ultrasonic cleaner, the passive immersion, vacuum at 25 mm of mercury was applied for 10 minutes and then left immersed for 24 hours, vacuum at 30 mm of mercury and vacuum at 650 mm of mercury for 24 hours. The dye was applied to 60 one rooted teeth and left for 24 hours, the specimens were washed, dried and sectioned longitudinally and each root canal had been filled out with Lysanda paste. An image analyzer, type Q 550 IW of the mark *Leica Qwin*, was used in which a routine was set up for the acquisition of the images. In the sequence, a second routine was set up for working with the image acquired, detecting the different levels of blue of the dye at the sample. The image was edited by the form operator to demarcate the projections of the infiltration area in square millimeters. The results were analyzed statistically (ANOVA and Tukey). Considering the whole experiment and the different ways of impregnating the dye, none of the experimental conditions was better than the other. Comparing the different methods of dye impregnation among the different thirds separately, it resulted in a statistically significant difference in the results at the cervical thirds, where the vacuum at 30 mm of mercury was

superior to the ultrasonic Gnatus and to the vacuum at 25 mm of mercury; In the medium thirds the passive immersion was superior in the results to the ultrasonic Gnatus. In relation to the apical third no experimental condition showed statistically significant difference. When the analysis was among the different thirds, the cervical third and medium third didn't present difference, while, between the cervical and apical thirds and the medium and apical thirds there were statistically significant differences.

Keywords: Methylene blue - Dye – Methodologies –Dentin Permeability

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 - Representação da estrutura molecular do corante azul-de-metileno.....	49
Figura 2.2 - Estrutura química do corante azul-de-metileno	49
Figura 4.1 - Vacuômetro acoplado a frasco destinado a conter a solução do corante azul-de-metileno	64
Figura 4.2 - Aquisição das imagens das hemipartes por meio do <i>software Leica Qwin</i>	67
Figura 4.3 - Divisão da imagem em terços com o auxílio de uma grade virtual programada durante o estabelecimento da rotina do <i>software</i>	68
Figura 4.4 - Imagem da hemiparte dividida em caselas correspondentes às regiões cervical, média e apical.....	68
Figura 4.5 - Seleção da imagem do arquivo para efetuar a leitura no <i>software Leica Qwin</i>	69
Figura 4.6 - A área da imagem a ser analisada é demarcada automaticamente pelo <i>software Leica Qwin</i>	70
Figura 4.7 - Início da edição manual pelo operador demarcando as projeções da infiltração dentro da rotina estabelecida para a análise.....	70
Figura 4.8 - Edição da imagem feita manualmente pelo operador no <i>software Leica Qwin</i>	71
Figura 4.9 - Leitura da área total de demarcação do corante azul-de-metileno pelo <i>software Leica Qwin</i> após a edição manual efetuada pelo operador.....	71

Figura 4.10 - Seqüência na rotina de leitura da área total de demarcação do corante azul-de-metileno pelo <i>software Leica Qwin</i>	72
Figura 4.11 - Seqüência na rotina de leitura da área total de demarcação do corante azul-de-metileno pelo <i>software Leica Qwin</i>	72
Figura 4.12 - Leitura da área de demarcação do corante azul-de-metileno no terço cervical pelo <i>software Leica Qwin</i>	73
Figura 4.13 - Leitura da área de demarcação do corante azul-de-metileno no terço médio pelo <i>software Leica Qwin</i>	73
Figura 4.14 - Leitura da área de demarcação do corante azul-de-metileno no terço apical pelo <i>software Leica Qwin</i>	74

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Medidas em mm ² das áreas totais de infiltração e respectivas médias das duas hemipartes considerando as diferentes formas de impregnação pelo corante azul-de-metileno nos 6 grupos experimentais.....	76
Tabela 5.2 - Análise de Variância relativa aos valores das áreas totais de infiltração das duas hemipartes considerando as diferentes formas de impregnação pelo corante azul-de-metileno nos 6 grupos experimentais.....	77
Tabela 5.3 - Médias amostrais calculadas correspondentes aos valores das áreas totais de infiltração das duas hemipartes considerando as diferentes formas de impregnação pelo corante azul-de-metileno nos 6 grupos experimentais.....	77
Tabela 5.4 - Teste de Tukey aplicado para diferenciação da significância entre as médias amostrais calculadas relativas às áreas totais de infiltração das duas hemipartes considerando as diferentes formas de impregnação pelo corante azul-de-metileno nos 6 grupos experimentais.....	77
Tabela 5.5 - Comparação duas a duas entre as médias dos grupos experimentais.....	78
Tabela 5.6 - Valores em mm ² correspondentes às leituras de cada uma das hemipartes considerados os terços cervical, médio e apical.....	80
Tabela 5.7 - Análise de Variância consideradas as leituras da impregnação pelo corante azul-de-metileno nos terços cervical, médio e apical.....	81
Tabela 5.8 - Médias amostrais calculadas considerando o fator de variação condições experimentais.....	81
Tabela 5.9 - Teste de Tukey correspondente às médias amostrais calculadas relativas às leituras de cada uma das hemipartes considerados os terços cervical, médio e apical.....	82

Tabela 5.10 - Médias e respectivas significâncias, consideradas comparações, duas a duas, relativas às diferentes condições experimentais.....	82
Tabela 5.11 - Fator de variação quanto à diferenciação dos terços, a partir das médias obtidas.....	83
Tabela 5.12 - Teste de Tukey relativo à diferenciação das médias amostrais calculadas entre as colunas constantes da Tabela 5.6, válido também para a interação colunas X linhas, ou seja: condição experimental X terços.....	83
Tabela 5.13 - Contrastes dois a dois e respectivas significâncias entre as médias correspondentes ao fator de variação terços.....	84
Tabela 5.14 - Média das interações terços X condições experimentais.....	84
Tabela 5.15 - Diferenças entre médias e significância da interação terços X condições experimentais, considerado o terço cervical isoladamente	85
Tabela 5.16 - Diferenças entre médias e significância da interação terços X condições experimentais, considerado o terço médio isoladamente	85
Tabela 5.17 - Diferenças entre médias e significância da interação terços X condições experimentais, considerado o terço apical isoladamente	86

SUMÁRIO

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO.....	27
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	32
3 PROPOSIÇÃO.....	53
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	55
4.1 Material.....	57
4.2 Métodos.....	59
4.2.1. preparo dos espécimes.....	59
4.2.2. métodos de avaliação.....	67
5 RESULTADOS.....	75
6 DISCUSSÃO.....	87
7 CONCLUSÕES.....	104
REFERÊNCIAS.....	105
APÊNDICES.....	111
ANEXO.....	113

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A Odontologia permaneceu até em parte do século XX limitada a achados empíricos e como tais, destituídos do devido embasamento científico. Nos últimos decênios, tendo em vista o grande desenvolvimento científico e tecnológico, encontra-se alicerçada em princípios biológicos e mecânicos, incluindo aqueles norteadores do tratamento endodôntico.

Graças à persistência de muitos pesquisadores, a Endodontia tem se destacado de forma significativa como especialidade odontológica mostrando-se capaz de promover, diante de elevados índices de sucesso, a resolução de patologias que afetam o sistema endodôntico e outras, que de forma mais expressiva, provocam alterações no sistema ligamentar.

A obtenção de sucesso na terapia endodôntica tem suas proporções aumentadas na medida em que as diversas e interdependentes etapas operatórias compreendidas pelo tratamento são desenvolvidas de forma adequada e sob características de respeito aos princípios biológicos.

Dentre os fatores a serem considerados nesse mister, a ampliação da permeabilidade dentinária desempenha importante papel. A adequada limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares, valendo-se da utilização dos instrumentos próprios da Endodontia e de substâncias químicas específicas, promovem a remoção da sujidade das paredes do canal radicular e da intimidade do tecido dentinário favorecendo a eficácia de medicações e melhor qualificando os objetivos da obturação endodôntica.

A dentina radicular e a polpa dental constituem a maior parte de um dente e exibem ampla relação de intimidade no referente a aspectos topográficos,

embriológicos e funcionais. No entanto, embora sejam de mesma origem embriológica, são modalidades diferentes de tecido conjuntivo, com comportamentos e estrutura físico-químicas distintas.

A dentina radicular humana, é composta por cerca de 70% de substâncias inorgânicas, 18% de substâncias orgânicas e 12% de água, sendo o principal componente inorgânico a hidroxiapatita.

Dada sua natureza tubular, a dentina apresenta peculiares características de permeabilidade. Essas se manifestam em função da variação do número e diâmetro dos túbulos dentinários, fator esse vinculado ao terço radicular considerado, como também, comporta-se diferentemente frente à variação de substâncias químicas a ela aplicadas quando de um tratamento endodôntico.

No que tange à variação da permeabilidade dentinária, outros importantes aspectos devem ainda ser considerados. As naturais mudanças fisiológicas derivadas do amadurecimento da idade, a ação de estímulos de natureza diversa condicionando adaptações estruturais, bem como, a região dentinária considerada, se coronária ou radicular, são fatores que associados ou isoladamente contribuem para que não haja padrão uniforme de permeabilidade por parte do tecido dentinário.

Mesmo tendo em conta os aspectos já aludidos, a dentina radicular humana sempre se mostrará com diferentes índices de permeabilidade, considerados seus diferentes terços.

A despeito disso tudo, é possível, com a utilização de substâncias químicas específicas, influenciar os padrões de permeabilidade da dentina e, independentemente de toda complexidade dos fatores envolvidos, torná-la relativamente equalizada em toda extensão radicular.

Nessa ordem de idéias, há de se ressaltar a importância da sanificação do sistema de canais radiculares durante o preparo químico-cirúrgico utilizando substâncias que aumentem a permeabilidade dentinária, principalmente nos casos de polpa mortificada onde a infecção pode não estar limitada apenas à luz do canal radicular, mas alojando-se ademais à massa dentinária dificultando sobremaneira a sua completa eliminação.

Desde que se acatou ser o domínio sobre o aumento da permeabilidade dentinária fator fundamental à melhor qualidade do tratamento endodôntico, diversos métodos de avaliação das variações da permeabilidade dentinária foram desenvolvidos. Dentre esses, cumpre destacar os que se valem do uso de isótopos radioativos, de endotoxinas, de microrganismos, de técnicas de filtração de fluidos; e, aqueles que empregam corantes como agentes indicadores.

Existe grande gama de relatos na literatura relativamente à utilização de corantes como agentes traçadores. Embora sejam pesquisas dotadas de reconhecida validade científica, muitas controvérsias circulam em torno do assunto.

Essas, dizem respeito, por vezes, aos métodos de aplicação, em outras ocasiões, discutem diferenças na concentração do corante, constituindo também, os tipos de corantes e suas características físico-químicas mais um alvo de questionamento.

Destarte, necessário se faz ainda considerar as questões que envolvem metodologias de avaliação da permeabilidade dentinária radicular humana, assunto, até o momento, não completamente resolvido, justificando-se por tal, a continuidade de contribuições a esse estudo.

Sendo esse o atual estado da arte, este trabalho tem como objetivo analisar *in vitro* a capacidade de penetração do corante azul-de-metileno na dentina

radicular humana, variando-se o método de impregnação, utilizando como método de leitura o *software* Leica Qwin.

REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

As ações voltadas ao tratamento endodôntico permaneceram, por tempo considerável, baseadas apenas na observação de resultados e calcadas em práticas empíricas.

A partir dos achados de Miller (1894) relacionando a presença de microrganismos no interior do canal radicular com a etiologia das doenças pulpares e periapicais, novos caminhos se abriram para a Odontologia.

Nos dias que correm, a comunidade científica tem como claro e perfeitamente aceito, que a limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares é fator determinante para o sucesso do tratamento endodôntico.

A evolução histórica da especialidade salienta o crescer da preocupação em se obter a eliminação do maior número possível de microrganismos, tanto daqueles residentes na superfície dentinária do canal radicular, quanto dos que colonizam a intimidade do sistema de canais radiculares, ganhando valor gradativo e cada vez maior, a importância de criterioso preparo químico-cirúrgico.

De fato, na terapia endodôntica a etapa de preparo do canal é de suma importância. Nessa, a ação dos instrumentos endodônticos e de substâncias químicas específicas permitem, no mais das vezes, a obtenção de níveis de sanificação suficientes ao estabelecer de condições favoráveis à instalação dos mecanismos reparacionais.

O alcance qualitativo da sanificação do sistema de canais radiculares guarda relação direta com as variáveis da permeabilidade dentinária. Essa, embora natural em si própria, é dependente do eventual conteúdo do canal radicular e da

ação dos fármacos empregados durante a etapa de preparo do canal radicular (PAIVA; ANTONIAZZI, 1991).

A questão da permeabilidade dentinária, desde que reconhecida como fator fundamental ao sucesso do tratamento endodôntico, vem sendo exaustivamente pesquisada ao longo de muitos anos.

Vários têm sido os enfoques direcionados a esse assunto, destacando-se entre eles, a utilização de substâncias químicas que aumentem a permeabilidade natural da dentina no intuito de favorecer a ação de medicações intracanal, bem como, os relacionados à busca de melhores condições destinadas ao ampliar da capacidade seladora dos cimentos endodônticos.

Cumprir lembrar que, sob o ponto de vista estrutural, Seltzer e Bender (1979) definiram a dentina radicular humana como um tecido mineralizado, cuja composição compreende a presença de matéria orgânica, inorgânica e fluidos, com característico arranjo tubular, propiciando assim peculiar aspecto de tecido permeável.

Conforme Grempel, Antoniazzi e Paiva (1990) o complexo dentina-polpa constituiu a maior parte do dente. A dentina por sua vez, é um tecido conjuntivo avascular e mineralizado, estando revestido em sua porção coronária por esmalte, enquanto que, na porção radicular esse revestimento é efetuado por cimento. Apresenta, ainda, em toda sua extensão túbulos contendo os canalículos dentinários, com variação aproximada de 30 a 70 mil por milímetro quadrado, com maior diâmetro na junção pulpo-dentinária (em torno de 5 micra) diminuindo à medida em que se aproxima da junção cimento-dentina (cerca de 1 micrômetro). À proporção em que o indivíduo envelhece a deposição de dentina peritubular e grandes cristais de hidroxiapatita, associados à deposição de dentina reparativa ou

reacional tanto coronária como radicular, promovem um estreitamento natural dos túbulos dentinários, traduzindo-se em diminuição do volume pulpar e alterando a permeabilidade da dentina.

A questão da permeabilidade dentinária deve ser vista sob dois prismas. O primeiro contempla os dentes portadores de polpa vital e o outro se relaciona aos dentes cuja polpa mortificou ou por qualquer razão foi removida, sendo esse último aspecto de elevado interesse à prática da Endodontia.

De fato, Chirnside (1961) após ter analisado cortes histológicos de dentes despulpados observou a presença de microrganismos sediados no interior dos túbulos dentinários.

Da mesma forma, Shovelton (1964) ao avaliar a distribuição dos microrganismos no interior do canal radicular, constataram que esses podem estar localizados em toda a extensão do canal principal, bem como na pré-dentina e nos túbulos dentinários até o limite cemento-dentina, propagando a contaminação para toda a massa dentinária.

Paiva e Antoniazzi (1973) constataram que, além de facilitar a ação dos instrumentos endodônticos as substâncias químicas auxiliares devem promover o aumento da permeabilidade da dentina radicular favorecendo a ação da medicação intracanal. Para tanto, sugeriram a utilização do creme de Endo PTC neutralizado pelo líquido de Dakin durante a etapa de preparo, complementando-se as manobras de limpeza e desinfecção com uma irrigação final.

Cipelli, Bombana e Antoniazzi (1995), enfatizaram a necessidade da utilização de substâncias químicas específicas associadas à ação dos instrumentos endodônticos durante a fase de preparo químico-cirúrgico do canal radicular. Acorde os referidos autores, ao tempo em que se promove limpeza e desinfecção da

superfície dentinária radicular é preciso que ocorram também ações de mesma natureza na intimidade da massa tecidual dentinária, papel fundamentalmente de competência das substâncias químicas auxiliares. Essa necessidade se impõe em razão dos túbulos dentinários de dentes despulpados conterem resíduos de matéria orgânica, ou ainda mais grave, a presença desses resíduos associados à colonização bacteriana.

Quando buscamos analisar os estudos pioneiros registrados nos compêndios de Odontologia, relacionados às metodologias utilizadas para avaliar essa característica extremamente peculiar da dentina, que é a permeabilidade, nos deparamos com os relatos iniciais de Fish (1927). Nessa ocasião o autor valendo-se da utilização de um agente traçador, a tinta da Índia, adicionou pequenas quantidades da mesma no interior da cavidade pulpar de dentes de cães e observou por meio de técnica microscópica a presença de partículas do produto no interior dos túbulos dentinários.

Ainda no intuito de analisar o que ocorria na dentina radicular humana, Fish¹ (1933, apud GOING,1960), injetou uma solução de azul-de-metileno na cavidade pulpar de dentes extraídos assim mantendo-os por 24 horas a 37 °C. Após esse período, os dentes foram seccionados sendo possível observar que a idade do dente interfere na capacidade de absorção do agente traçador pela dentina, o que traduz natural diminuição da permeabilidade.

Estudos que se valem da utilização de agentes traçadores em pesquisas endodônticas se distribuem basicamente em dois aspectos: a aferição de percolações marginais ou a quantificação da permeabilidade dentinária.

¹Fish EW. Na experimental investigation of enamel, dentin and dental pulp. London, John Bales Sons and Danielsson, Ltd. 1933.

Diversas metodologias para avaliar a permeabilidade da dentina encontram-se descritas na literatura, dentre elas, as que se valem da utilização de corantes. Esse tipo de agente traçador penetra na dentina propiciando a possibilidade de leitura da área demarcada pelo mesmo.

Dentre os estudos clássicos relacionados aos métodos de estudo da infiltração apical, buscando investigar a capacidade de selamento de diferentes técnicas e materiais obturadores presentes na literatura, encontra-se o proposto por Dow e Ingle (1955) que, valendo-se da utilização de isótopos radioativos como marcadores avaliaram a qualidade de obturações endodônticas.

Cumprido aclarar também, que métodos de penetração de corantes utilizando o azul-de-metileno como agente traçador constitui forma de ampla utilização desde há muito tempo. Antoniazzi, Mjør e Nigaard-Østby (1968) valeram-se da utilização dessa substância como marcador da infiltração para avaliar as propriedades seladoras de materiais usados na obturação do canal radicular.

Moura, Robazza e Paiva (1978) utilizaram o azul-de-metileno como agente traçador ao avaliar a relação entre a permeabilidade da dentina radicular humana e o uso do Endo PTC.

Da mesma forma Robazza, Paiva e Antoniazzi (1981) valendo-se do azul-de-metileno como substância corante de eleição, avaliaram as possíveis variações da permeabilidade da dentina radicular diante do uso de diferentes fármacos como substância química auxiliar da instrumentação.

Moura e Paiva (1989) também se utilizaram do azul-de-metileno como substância evidenciadora ao avaliar a permeabilidade da dentina radicular frente à utilização de diferentes instrumentos endodônticos.

Ainda relacionado ao uso do azul-de-metileno, Ferreira (2001) valeu-se desse agente traçador ao avaliar a microinfiltração apical em diferentes técnicas de obturação do canal radicular.

Ao longo das últimas décadas numerosos estudos têm sido publicados acerca da eficiência do selamento de várias técnicas endodônticas e materiais obturadores, e existindo também, em larga escala pesquisas voltadas à análise da permeabilidade da dentina radicular humana.

Essa metodologia em particular tem sido submetida a questionamentos por alguns pesquisadores, aventando-se a possibilidade da presença de ar aprisionado no interior dos túbulos dentinários interferirem na penetração do agente traçador, dificultando o pleno contato do mesmo com a estrutura dentinária intratubular.

Schnell (1978) e Ford (1979) chamaram à atenção para o fato da penetração do corante ocorrer para o interior de pequenos espaços vazios por força capilar.

Russin et al. (1980) ao analisarem a capacidade de vedamento promovida por diferentes técnicas de obturações incluíram em seu experimento um grupo no qual os espécimes foram submetidos à mesma técnica de preparo do canal radicular, porém não foram obturados. Após a verificação dos resultados observaram um desvio muito pequeno no padrão de infiltração entre os diferentes grupos analisados, incluindo o não obturado. Frente a essa situação os autores justificaram o fato em função da presença do ar, dificultando sobremaneira a penetração do agente traçador na intimidade dos túbulos dentinários. Alertaram para o fato de que os métodos utilizados para avaliar infiltração precisam ser revistos e que métodos mais precisos são necessários a fim de melhor balizar a validade desse tipo de pesquisa.

Para mais, Spradling e Senia (1982) relatam que a penetração do corante não ocorre de forma plena no interior da estrutura dentinária. Creditam essa assertiva ao fato de que a presença de ar no interior dos túbulos pode interferir na completa penetração do agente traçador em toda a extensão dos mesmos, a menos que o ar seja eliminado em sua totalidade, permitindo assim, a penetração por capilaridade.

Da mesma forma, Spangberg, Acierno e Cha (1989) alertaram para os possíveis efeitos da presença do ar no interior dos túbulos dentinários em estudos de infiltração, afirmando que o mesmo pode inibir a penetração do agente traçador. Para minimizar esses efeitos, sugerem a utilização de ambiente sob vácuo. Justificam ser de fácil entendimento a conotação que tem sido dada à necessidade em se remover previamente o ar presente no interior do canal radicular e dos túbulos dentinários, uma vez que, essas estruturas não podem ser completamente repletadas sem que o ar seja totalmente eliminado.

Tal fato evidencia porque a metodologia de imersão passiva dos corantes, como um indicador de marcação na penetração do agente traçador, vem sendo ponderada com limitações.

Evans e Simon (1986) analisaram a microinfiltração em dentes tratados endodonticamente utilizando como agente traçador a tinta da Índia. Os terços apicais dos espécimes foram imersos em tubos de ensaio contendo o agente traçador, sendo posteriormente colocados em uma centrífuga a uma velocidade de 3000 rpm por um período de 20 minutos. A justificativa para a utilização de tal metodologia foi com o intuito de minimizar os efeitos da presença de ar favorecendo a ação de capilaridade na penetração da tinta.

Goldman, Simmonds e Rush (1989) realizaram um estudo com o objetivo de analisar a diferença comportamental na repleção do corante frente à utilização de duas metodologias. Na primeira, o ar foi retirado dos espécimes com auxílio de uma bomba de vácuo calibrada para 25 mm Hg de pressão negativa por um período de 10 minutos, enquanto que, na segunda, os espécimes foram imersos passivamente no agente traçador. Após a verificação dos resultados puderam concluir que com a utilização do vácuo a penetração do corante foi completa em todos os espécimes analisados, e que na ausência da aplicação do mesmo, os resultados apresentaram grandes variações. Acreditam os autores que as discrepâncias observadas nos estudos de infiltração e a grande variabilidade nos resultados são justificadas pela exposição accidental de ar durante a etapa experimental. Aventam que os resultados são indiscutíveis e lançaram dúvidas sobre pesquisas que não levam em consideração a remoção prévia do ar quando da busca de impregnação por corantes ou radioisótopos.

Oliver e Abbott (1991) compararam a influência da presença do ar na capacidade de penetração do corante azul-de-metileno valendo-se de diferentes metodologias: a imersão passiva, a centrifugação e a imersão sob vácuo. Os resultados obtidos demonstraram um índice de 100% de penetração do agente traçador quando se utilizou a imersão sob vácuo, 91,7% para o método de centrifugação e 20,7% para a imersão passiva, permitindo aos autores observar que, em uma gama de estudos relacionados à microinfiltração tem havido uma tendência a atribuir resultados a materiais e técnicas e não uma reflexão real do efeito promovido pela presença do ar.

Dickson e Peters (1993) utilizaram a tinta da Índia por um período de 5 dias sob 37 °C, com o intuito de avaliar a capacidade de selamento marginal apical

promovida por diferentes técnicas de obturação em dentes que foram submetidos a tratamento endodôntico. Para tal, valeram-se da utilização de duas metodologias, a infiltração passiva e a aplicação do vácuo. Os espécimes foram divididos em diferentes grupos experimentais diante do auxílio de um dispositivo que propiciava que permanecessem em posição vertical. Em um grupo foi aplicado vácuo calibrado para 25 mm Hg por 30 minutos, enquanto que, no outro foi realizada somente a imersão passiva. Os resultados obtidos não demonstraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados.

No mesmo ano, Wu e Wesselink (1993) alertaram para a necessidade de um maior número de pesquisas no que concerne aos métodos de utilização dos corantes. Os autores sugerem que para as pesquisas serem dotadas de credibilidade certos cuidados devem ser observados em relação à grande variabilidade metodológica quando se busca avaliar microinfiltração. Dentre esses cuidados podemos enumerar: a escolha e preparação dos espécimes de forma padronizada; o ajuste do pH do agente traçador, e que se utilize o vácuo ou pressão no intuito de permitir maior área de contato do agente traçador com a estrutura dentinária radicular.

Para verificar a capacidade de selamento de materiais para retroobturações em estudos de infiltração Starkey, Anderson e Pashley (1993) utilizaram 84 dentes humanos extraídos, os quais permaneceram mergulhados em solução corante de azul-de-metileno por 7 dias em pH 1, 2, 3, 5 ou 7. Os espécimes foram divididos em 6 grupos de 10, colocados em um umidificador a 37 °C por 24 horas com posterior submersão no agente traçador. A cada grupo experimental foram adicionados 2 espécimes como controle positivo e 2 espécimes como controle negativo, imersos na solução corante e submetidos a um vácuo calibrado para 100 mm Hg por 15

minutos. Após a avaliação dos resultados os autores observaram a completa penetração do agente traçador nos controles positivos, endossando a efetividade da utilização do vácuo em estudos de infiltração.

O emprego de condições de vácuo também constituiu método utilizado por Ricci e Kessler (1994) ao avaliarem microinfiltração em diferentes técnicas endodônticas. Para tal, se valeram de vácuo calibrado para a faixa de 740 a 755 mm Hg por 15 minutos e imersão dos espécimes em tinta da Índia por uma hora.

Pathomvanich e Edmunds (1996) analisaram diferentes metodologias de infiltração de corantes a fim de observarem a microinfiltração em canais simulados confeccionados em resina transparente. Quatro diferentes métodos de infiltração foram utilizados: a penetração passiva, a centrifugação, a aplicação de vácuo com a penetração passiva e a utilização da pressão com a penetração passiva, valendo-se para tal, do corante azul-de-metileno como agente traçador. Os resultados obtidos demonstraram diferenças estatisticamente significante entre a penetração passiva do corante azul-de-metileno e as demais metodologias utilizadas, porém, entre o vácuo, a pressão e a centrifugação os resultados não foram suportados estatisticamente.

Tencionando promover diferentes tipos de leituras da infiltração em dentes que foram submetidos ao tratamento endodôntico Veis; Lambrianide e Nicolaou (1996) também recomendaram a utilização do vácuo.

Antonopoulos, Attin e Hellwig (1998) ao avaliarem o selamento apical promovido pela obturação do canal radicular valeram-se de três diferentes metodologias para análise da infiltração: a penetração passiva; e a utilização de vácuo calibrado para 60 mm Hg por 10 minutos. Os espécimes desses grupos experimentais permaneceram submersos na tinta da Índia por 7 dias sob 37 °C. No

terceiro grupo, o método de penetração foi sob condição de alta pressão (autoclave com 200 MPa) valendo-se para tal da Rhodamine B como marcador da infiltração. Frente ao tratamento estatístico dos dados, não foi apurada diferença significativa entre a penetração passiva e a utilização do vácuo e, na condição experimental de alta pressão os resultados apresentados foram significativamente baixos, permitindo aos autores a conclusão de que não é necessária a utilização desses artifícios quando se busca avaliar a capacidade de selamento na obturação do canal radicular.

Oliver e Abott (1998) ao avaliarem a microinfiltração coronária e apical com diferentes cimentos endodônticos utilizaram-se de vácuo calibrado para 660 mm Hg por 5 minutos com posterior submersão dos espécimes em solução corante de azul-de-metileno por um período de 48 horas.

Já na Dentística Restauradora, Youngson et al. (1998) observaram que um grande número de estudos de microinfiltração, em suas metodologias, emprega diferentes agentes traçadores que podem penetrar na interface dente-material restaurador com um grau de extensão variável devido suas respectivas características físico-químicas. Para tal, compararam a capacidade de penetração de diferentes agentes traçadores: a eosina a 5%, o azul-de-metileno a 2%, o nitrato de prata a 50% e a tinta da Índia, todas as soluções tamponadas e com pH variando de 6,9 a 7,2. O grau de penetração do agente traçador nos túbulos dentinários resultou em uma área corada na dentina, sendo essa, quantificada através da análise das imagens. Os resultados permitiram concluir que houve diferença estatisticamente significativa entre as áreas de penetração da dentina em associação a cada agente traçador. Observaram também que, apesar da variedade de pH, os diferentes agentes traçadores mostraram tanto na presença quanto na ausência do

smear layer penetração similar nos túbulos dentinários. Concluíram também, que a tinta da Índia por possuir partículas de tamanho variável representa agente traçador adequado para ser usado em testes de microinfiltração.

Wimonchit, Timpawat e Vongsavan (2002) valeram-se da utilização de diferentes metodologias para avaliar a microinfiltração coronal: a penetração passiva, a aplicação do vácuo e o método de filtração de fluidos. Os dentes permaneceram em 100% de umidade a 37 °C por 5 dias sendo posteriormente imersos em tinta da Índia por 2 dias. Após esse período os espécimes foram diafanizados e a infiltração medida de forma linear. Ao analisarem os resultados, os autores observaram que a aplicação do vácuo apresentou diferença estatisticamente significativa em relação às demais metodologias utilizadas.

Ao analisar comparativamente três metodologias de infiltração em dentes que foram submetidos ao tratamento endodôntico, Camps e Pashley (2003) valeram-se da utilização do corante azul-de-metileno a 2% como marcador da infiltração. O propósito desse estudo foi comparar a técnica clássica de penetração do corante com uma nova técnica quantitativa de extração do corante. Nessa as raízes são dissolvidas em ácido para remover previamente o corante antes do processamento de uma análise colorimétrica. Nessa técnica de extração do corante, as raízes foram acondicionadas em uma ampola contendo 600 µL de ácido nítrico a 65% por 3 dias, com posterior centrifugação a 14.000 rpm por 5 minutos para separar resíduos de guta-percha do corante a ser extraído. Na sequência, 200 µL do sobrenadante foram adicionados em cada frasco e transferidos para 96 receptáculos. A absorção colorimétrica do conteúdo dos 96 receptáculos foi determinada utilizando um espectrofotômetro a 550 nanômetros usando ácido nítrico concentrado. A análise colorimétrica quantificou a infiltração, tendo como controle a técnica de filtração de

fluidos. Conforme a análise dos resultados os autores demonstraram a limitação metodológica apresentada pelo método clássico de penetração do corante azul-de-metileno e que a extração prévia, isto é, o método de dissolução, apresentou os mesmos resultados que a filtração de fluidos.

A utilização de agentes traçadores como método de avaliação da permeabilidade dentinária radicular e da infiltração marginal apical é fato marcante na literatura, representando entre os corantes, as soluções de azul-de-metileno como as mais utilizadas, mesmo até os dias atuais.

Outras pesquisas empregaram diferentes substâncias como agentes marcadores, como por exemplo radioisótopos.

Mesmo sendo esse um método amplamente utilizado, Antoniazzi, Mjør e Nigaard-Østby (1968), ao estudarem a permeabilidade marginal apical, evidenciaram ocorrer limitações nas avaliações de trabalhos em que foram utilizados isótopos radioativos. Acreditam que, devido a essas substâncias apresentarem dispersão tardia e absorção da própria radiação, exigem estudos que requerem secções planas e paralelas, sob standardização da espessura, forma conveniente à obtenção de amostras comparáveis, dificultando esse somatório de necessidades sua utilização. Isso reforça ser o emprego da solução de azul-de-metileno método bem indicado quando se busca análises de infiltração marginal ou mesmo de níveis de permeabilidade dentinária. Ressaltam, entretanto, ser o ajuste do pH em 7 muito importante, por serem ácidas as soluções de azul-de-metileno e por isso capazes de dissolver porções inorgânicas dos tecidos e, ao tornarem-se alcalinas em demasia tenderem a se converter à forma de um leucometileno e como tal; e, nessas condições totalmente isento de qualquer faceta cromatográfica.

Oppenheimer e Rosenberg (1979), observaram que o tamanho reduzido da partícula da solução de azul-de-metileno propicia a esse corante resultados de maior exatidão em testes de infiltração quando em comparação à utilização de derivados bacterianos.

Conforme relatado por Matloff et al. (1982), ao compararem diferentes metodologias para avaliar a infiltração apical, as soluções aquosas de corantes penetram em maior profundidade na intimidade do canal radicular em relação a qualquer isótopo. Consideraram, assim, soluções corantes como mais sensíveis marcadores de infiltração, considerado esse nível de comparação.

Luomanen e Tuompo (1985) observaram que a infiltração determinada pela utilização de corantes e radioisótopos pode estar mais próxima do comportamento real da percolação, uma vez que envolve moléculas de pequeno tamanho e com ação de capilaridade, se comparadas à infiltração de microrganismos e toxinas que apresentam moléculas de maior tamanho.

Al-Ghamdi e Wennberg (1994) revisando a literatura sobre a capacidade seladora de materiais obturadores endodônticos referem-se à solução de azul-de-metileno afirmando que penetram facilmente na estrutura dentinária, não reagem com o tecido duro e suas marcações são facilmente detectáveis.

Ahlberg, Assavanop e Tay (1995) compararam a capacidade de selamento produzida por diferentes materiais obturadores utilizando o azul-de-metileno e a tinta da Índia como marcadores de infiltração. Através da análise do tamanho da partícula da tinta da Índia os autores observaram valores compreendidos entre 0,5 a 600,00 μm , podendo também ocorrer à formação de pequenos aglomerados moleculares (tamanho médio de 9,62 μm). Pelo fato da tinta da Índia apresentar uma partícula de tamanho maior, foi lícita a conclusão de que o azul-de-metileno apresenta uma maior

capacidade de penetração, em função de sua estrutura comportar peso molecular menor. Alertaram também para a pouca resistência da tinta da Índia no que se refere à refrigeração promovida pela água quando submetida ao desgaste.

Ainda no que se refere ao uso de corantes como marcadores da infiltração, Tewari e Tewari (2002) valeram-se do azul-de-metileno como agente traçador ao avaliar a microinfiltração coronária de materiais seladores temporários em dentes que foram submetidos ao tratamento endodôntico.

Também Roux, Domegean-Orliaguet e Saade (2002) utilizaram como a solução corante de eleição o azul-de-metileno ao analisar a capacidade de vedamento de diferentes materiais em obturações retrógradas.

Da mesma forma que, Gondim, Kim e Souza-Filho (2005) ao analisarem a microinfiltração de materiais retroobturadores em cavidades confeccionadas com o uso do ultra-som se valeram do uso dessa mesma substância evidenciadora.

Zmener, Pameijer e Macri (2005) valeram-se da utilização do corante azul-de-metileno como substância evidenciadora ao avaliar a capacidade de vedamento de diferentes cimentos endodônticos em dentes tratados endodonticamente.

Em relação à estrutura molecular do corante azul-de-metileno, Santamarina et al. (2002) observaram que ela apresenta um formato retangular.

Figura 2.1 - Representação da estrutura molecular do corante azul-de-metileno

No que se refere a sua fórmula química os aludidos autores a descreveram como: $C_{16}H_{18}ClN_3S$, com um peso molecular de 319,87 g/mol. Em solução aquosa o azul-de-metileno comporta-se como um corante catiônico, $C_{16}H_{18}ClN_3S^+$, podendo apresentar uma área de alcance variável. Sendo que, a forma como a molécula contata a superfície a ser infiltrada é que determinará a maior ou menor área de demarcação propiciada pelo corante.

Figura 2. 2 - Estrutura química do azul-de-metileno

Quando se busca na literatura os métodos de leitura utilizados para determinar a área corada pelos agentes traçadores observa-se um progresso significativo nessa área.

Na década de 60, para melhor analisar a capacidade de penetração do corante na dentina métodos de leitura foram propostos por Marshall, Massler e Dute (1960)

Costa e Antoniazzi (1972) observaram dificuldades na obtenção de uma correta avaliação da permeabilidade dentinária com o método proposto por Marshall, Massler e Dute (1960), determinando falhas na metodologia para uma análise quantitativa de maior rigor.

Frois et al. (1981) apresentaram um método diferente para avaliação da permeabilidade da dentina radicular, partindo da análise volumétrica da penetração do corante azul-de-metileno a 2%. O método proposto foi comparado ao IPD (Índice de permeabilidade dentinária) de Marshall, sendo que, após a análise dos resultados os autores consideraram seus achados bastante confiáveis por se tratarem de dados de ordem quantitativa.

Com a era da imagem digitalizada, programas computadorizados e novos *softwares* disponíveis no mercado o perfil desse campo de pesquisa modificou-se.

Assim, Hamaoka e Moura (1996) valeram-se do auxílio do sistema de análise de imagens DIRACOM3 como método de avaliação da permeabilidade dentinária para analisar o comportamento de três diferentes tipos de corantes.

Frois (1999) propôs uma modificação referente à análise de cortes transversais de canais radiculares submetidos ao preparo químico-cirúrgico e infiltrados com o corante azul-de-metileno a 2% a 37 °C por um período de 12 horas. Após a obtenção das amostras, os cortes foram digitalizados com o auxílio de um *scanner* de mesa, trabalhados pelo sistema de análise de imagens Imagelab medindo o percentual da área de dentina corada. Segundo a autora a utilização de tal metodologia é justificada pela impossibilidade de erro por parte do operador.

Lauretti (1999) valendo-se da utilização de dentes extraídos submetidos ao preparo químico-cirúrgico avaliou o comportamento do corante azul-de-metileno a 0,5% analisando a área e o volume de dentina corada. Para tal, os cortes transversais obtidos foram escaneados em um *scanner* de mesa e as imagens analisadas pelo sistema de tratamento de imagens Imagelab 2.3. Após a obtenção das imagens, foi calculado o valor percentual da área de dentina corada seguindo rotina de leitura específica. A análise dos resultados obtidos permitiu a esse autor concluir que é de fundamental importância a utilização de uma metodologia idônea e com capacidade de fornecer dados diante da menor margem de erro possível.

Palamara et al. (2000) valeram-se da utilização da análise digital da imagem de secções de dentina para verificar a orientação tubular da mesma. Através de uma câmara acoplada a um microscópio ótico, as imagens foram obtidas e posteriormente submetidas ao tratamento de imagem com o *software* Bioscan

(Optimas Incorporated, Edmonds, WA), observando uma grande precisão na análise obtida sob elevada resolução.

No mesmo ano, Lemos et al. (2002) ao descreverem as formas de obtenção das imagens digitais verificaram que as câmeras digitais são de grande eficiência na maioria das suas aplicações permitindo a modificação das imagens, diferenciando-as das tomadas fotográficas convencionais.

Macedo (2003) comparou três diferentes métodos de leitura relacionados à análise da infiltração de corante na permeabilidade da dentina radicular humana. Para tal, foram selecionados 16 dentes humanos unirradiculares utilizando como agente traçador o corante azul-de-metileno a 0,5% nos tempos experimentais de 24 e 48 horas a 37 °C. Dentre os métodos de leitura, determinou uma variação no método proposto por Marshall, Massler e Dute (1960) obtendo os dados através de uma imagem impressa e dois sistemas de avaliação digitalizados. A aplicação dos *softwares* permitiu duas maneiras distintas de leitura, ambas demarcando as áreas a serem medidas. Uma empregando uma ferramenta própria para o contorno e outra utilizando o cursor dirigido pelo *mouse*. Concluído o contorno de cada uma das áreas marcadas pelo corante a análise era feita em um determinado intervalo de cor das tonalidades de azul geradas pela infiltração do corante. Verificando os resultados, concluiu que os métodos de leitura digital são válidos e frente aos resultados obtidos sugeriu a possibilidade da utilização de ambos quando relacionados à análise de área de infiltração de corante em dentina. Observou também que, apesar do método de leitura da imagem impressa ter alcançado diferença estatisticamente significativa, quando comparado aos demais, não torna inviável a sua utilização.

Considerando o visto nesta Revisão da Literatura parece-nos clara a necessidade de mais pesquisas no que diz respeito ao uso de corantes na marcação de áreas de infiltração ou de variações na permeabilidade dentinária, sendo o objetivo da presente pesquisa uma contribuição para essa faceta de estudo aplicada à Endodontia.

PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

Pelo presente estudo nos propomos a quantificar *in vitro*, com auxílio do *software Leica Qwin*, as áreas de infiltração, nos terços cervical, médio e apical, em dentes humanos preparados endodonticamente e impregnados por uma solução de azul-de-metileno a 0,5%, tendo como fonte de variação seis diferentes formas de impregnação.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho teve aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (Anexo A).

4.1 Material

- Adaptador girável para câmera MC - A292 - DF Vasconcellos S. A - São Paulo - SP;
- Água destilada;
- Agulhas hipodérmicas para insulina;
- Aparelho de ultra-som piezoelétrico - Gnatus Equipamentos Médico-Odontológicos Ltda. - Ribeirão Preto - SP;
- Bomba de vácuo - Dabi-Atlante - Ribeirão Preto - SP;
- Bomba de vácuo – Tecnal – modelo IE/058;
- Brocas Gates-Glidden nºs 1, 2 e 3 de 28 mm - Maillefer - Suíça;
- Cabo de bisturi - Jon Produtos Odontológicos - São Paulo - SP;
- Caixa plástica, de tamanho médio, com tampa;
- Cânulas para aspiração;
- Cânulas para irrigação 30/4, sem bisel;
- Cianocrilato de etila - Superbonder - Loctite do Brasil Ltda. - São Paulo - SP;
- Cones de papel absorvente - Dentsply Indústria e Comércio Ltda. - Petrópolis - RJ;
- Creme Endo PTC - Oficinalis - Farmácia de Manipulação - São Paulo - SP;

- Cuba de ultra-som - Ultrasonic Cleaner- 144 OD- OdontoBrás Indústria de Equipamentos Médico-Odontológico Ltda. - Ribeirão Preto - SP;
- 60 dentes unirradiculares humanos, obtidos junto à Disciplina de Anatomia e Escultura Dental da Universidade de Santa Cruz do Sul;
- Dessecador de vidro com capacidade para 5 L;
- Discos diamantado dupla face - KG Sorensen Indústria e Comércio Ltda. Barueri - SP;
- Divisor de luz MC- A50 - DF Vasconcellos S. A - São Paulo - SP;
- Escovas de aço para baixa rotação - SSWhite Artigos Dentários - Rio de Janeiro
- EDTA-T a 17% - Oficinalis - Farmácia de Manipulação - São Paulo - SP;
- Espátula de inserção nº1 - Duflex/SSWhite;
- Estativa - Marca Kaiser - Laboratório de Petrografia Sedimentar do IGc - USP - São Paulo;
- Estufa bacteriológica - Olidef CZ - Ribeirão Preto - SP;
- Fita crepe;
- Filme radiográfico - Ektaspeed - Kodak, EUA;
- Hipoclorito de sódio a 0,5% - Ervália - Farmácia de manipulação - Santa Cruz do Sul - RS;
- Intermediário metálico para aspiração - Metalúrgica Fava - Barueri - SP;
- Lâminas de cera utilidade;
- Lâmpada fluorescente;
- Lente macro Cannon - Laboratório de Petrografia Sedimentar do IGc - USP - São Paulo;
- Limas tipo Flexofile de nº 15, 21 mm - Dentsply - Maillefer, Ballaiges - Swiss;

- Luvas de látex para procedimentos;
- Mandril para peça de mão;
- Máquina fotográfica Sony 3 CCD Donpishé - Laboratório de Petrografia Sedimentar do IGc - USP;
- Massa para modelar na cor preta, Faber - Castell;
- Micro motor e peça reta - Dabi-Atlante - Ribeirão Preto - SP;
- Microscópio cirúrgico - MC-M-903- DF Vasconcellos S. A. - São Paulo - SP;
- *Nível de bolha* montado em armação metálica;
- Papel sulfite preto, formato A4; Copimax, São Paulo;
- Paquímetro digital - Mitutoyo Sul Americana Ltda. - Suzano - SP;
- Pasta Lysanda - Lysanda Produtos Odontológicos Ltda. - São Paulo - SP;
- Programa para análise estatística GMC - Prof. Geraldo Maia Campos - Faculdade de Odontologia da USP, Campus de Ribeirão Preto - SP;
- Régua metálica milimetrada - Dentsply - Maillefer, Ballaiges - Swiss;
- Seringas descartáveis de 10 cc;
- Seringas descartáveis para insulina;
- *Software Leica Qwin* - Laboratório de Petrografia Sedimentar do IGc - USP São Paulo;
- Solução aquosa de azul-de-metileno a 0,5% - pH 7,0 - Oficinalis - Farmácia de Manipulação - São Paulo - SP;
- Solução salina a 0,9%;
- Sonda exploradora nº 5 de ponta reta - SS White Duflex, Rio de Janeiro RJ
- Toalhas de papel absorvente - Melhoramentos, SP;
- Vacuômetro - Oxigel - São Paulo - SP

4.2 Métodos

4.2.1 preparo dos espécimes

Foram selecionados 60 dentes caninos superiores humanos com desenvolvimento radicular completo, extraídos por motivos diversos, provenientes da disciplina de Anatomia e Escultura Dental do Departamento de Odontologia e Enfermagem da Universidade de Santa Cruz do Sul - RS, correspondentes a faixa etária de pacientes entre 20 e 40 anos de idade.

Para a seleção dos espécimes buscou-se dentes que apresentassem similaridade morfológica radicular. Foram incluídos neste estudo dentes, que após avaliação radiográfica, apresentaram canal único, reto e com largura vestibulo-palatina compatível com a faixa etária determinada. Dentes à margem dessas características, com sinais de manipulação endodôntica anterior, portadores de calcificações difusas ou reabsorções internas foram excluídos e devolvidos ao acervo da disciplina de Anatomia e Escultura Dental já referida.

Seqüencialmente, os dentes selecionados tiveram suas porções coronárias removidas em nível da junção amelo-cementária com a utilização de discos diamantados de dupla face, em baixa rotação sob irrigação constante.

Feito o corte das coroas os espécimes foram medidos com auxílio de um paquímetro digital sendo os desgastes necessários efetuados de tal forma que o comprimento total de cada exemplar ficasse em 17 mm.

Os espécimes foram reidratados por imersão em solução salina a 0,9% durante 48 horas em estufa a 37 °C a fim de equalizar o padrão de hidratação dos mesmos, sendo então divididos aleatoriamente em 6 grupos com 10 espécimes cada um.

A seguir, com uma lima Flexofile de número 15 e na presença de solução de hipoclorito de sódio a 0,5% foi realizado o esvaziamento dos canais radiculares. No transcorrer dessa etapa operatória utilizou-se 1 mL da solução irrigadora para o esvaziamento do terço cervical, no qual com auxílio do mesmo instrumento promoveu-se sua agitação por 1 minuto. Decorrido esse tempo a solução irrigadora foi aspirada e renovada. Da mesma forma esse procedimento se repetiu nos terços médio e apical, sendo despendido o tempo de 3 minutos para essa etapa operatória, totalizando 3 mL de solução irrigadora para cada espécime.

O ajuste do comprimento real de trabalho foi feito por meio da inserção de uma lima tipo Flexofile de número 15 no canal radicular até que fosse visualizada justapostas ao forame apical, aspecto esse aferido com auxílio do microscópio cirúrgico calibrado para 20 aumentos. Isso feito recuou-se da medida obtida um milímetro, sediando-se o comprimento real de trabalho em aproximadamente 16 mm

As entradas dos canais foram alargadas com o auxílio de brocas tipo Gates-Glidden números 1, 2 e 3 de 28 mm promovendo a ampliação do terço cervical. Nesses procedimentos foram despendidos, para cada espécime, o tempo de 5 minutos e a quantidade de 5 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,5%.

A etapa de preparo químico-cirúrgico foi desenvolvida às expensas de limas Flexofile empregando-se como substância química auxiliar o creme de Endo PTC neutralizado por solução de hipoclorito de sódio a 0,5%. O creme foi conduzido para o interior do canal radicular com auxílio de uma seringa plástica dotada de

cânula 40:20 e das próprias limas empregadas no transcurso do preparo. A cada troca de instrumento os canais radiculares foram irrigados com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e o creme substituído, a fim de manter constante o regime de efervescência. Em função da seleção dos espécimes foi possível iniciar o preparo químico-cirúrgico de todos com a lima de calibre 20, de sorte a poder trabalhar seqüencialmente até o instrumento de número 40 e realizar o preparo-apical com instrumento de número 45, totalizando 20 mL da solução irrigadora para essa etapa operatória em cada espécime trabalhado. Isso feito procedia-se irrigação-aspiração do canal radicular com a solução de hipoclorito de sódio a 0,5% deixando-se ao final o mesmo inundado pelo líquido. Com uma lima de número 15 procedia-se agitação até não se observar mais o ocorrer de efervescência, substituindo-se a solução de hipoclorito, tantas vezes quantas necessárias. Nessa etapa, por derradeiro, promovia-se a irrigação-aspiração dos espécimes com 5 mL da solução de hipoclorito de sódio. Em seguida, com cânulas aspiradoras de calibres decrescentes procedeu-se completa aspiração do canal radicular e o preenchimento do mesmo com solução de EDTA-T 17%. Essa solução foi agitada com auxílio de uma lima de calibre 20 durante 3 minutos, seguindo-se irrigação e aspiração com mais 5 mL da mesma solução.

Os espécimes foram secados externamente com auxílio de toalhas de papel absorvente e internamente por aspiração complementada pela utilização de cones de papel absorvente. As raízes foram dispostas sobre uma lâmina de cera utilidade para aplicação do agente impermeabilizador. Essa manobra foi realizada aplicando-se duas camadas de cianocrilato de etila (LAGE-MARQUES, 1990). Esse agente impermeabilizante foi aplicado sobre toda extensão da superfície radicular,

partindo-se da apical e concluindo-se na cervical, protegendo-se o ápice dos dentes com uma bolinha de cera utilidade.

Após a cura do agente impermeabilizador, os espécimes do grupo 1, foram dispostos verticalmente em lâmina de cera utilidade, com a porção cervical voltada para cima. Com o auxílio de seringas para injeção de insulina os canais foram preenchidos por uma solução aquosa de azul-de-metileno a 0,5% (pH 7,0). As pontas das cânulas de ejeção foram introduzidas até próximo ao preparo apical e a solução marcadora ejetada lentamente, à medida em que, o recuar das mesmas tinha oportunidade, em aproximadamente milímetro em milímetro. Após o preenchimento dos canais, os mesmos foram submetidos à vibração ultra-sônica. Para tanto foi empregado um aparelho de ultra-som de fins endodônticos na frequência de 29 kHz com uma lima de número 15 acoplada ao dispositivo adaptador ajustada para 21 mm provocando-se fluxo acústico no interior dos canais por 10 minutos para cada espécime. Concluído esse expediente, os espécimes foram mergulhados na solução marcadora aí permanecendo por 24 horas.

Os espécimes do grupo 2, tiveram seus canais radiculares preenchidos pela solução de azul-de-metileno de forma idêntica à do grupo 1, sendo em seguida mergulhados na mesma solução contida em um recipiente de vidro inserindo-se o conjunto em uma cuba ultra-sônica na qual foram submetidos à vibração de 40 kHz por 10 minutos, permanecendo após isso mergulhados no corante por 24 horas.

Os espécimes do grupo 3, foram também fixados em posição vertical em lâmina de cera utilidade, com a porção cervical voltada para cima. Com auxílio de seringas para injeção de insulina os canais foram preenchidos com a solução de azul-de-metileno. As agulhas foram introduzidas até a proximidade do preparo apical e o corante injetado lentamente, concomitante à retirada da agulha. Após ter sido

constatado o total preenchimento de todos os canais com o agente traçador, todos os espécimes foram mergulhados na mesma solução corante por 24 horas.

Os espécimes do grupo 4 foram da mesma forma fixados em uma lâmina de cera e inseridos em um vacuômetro, seguindo-se obtenção de vácuo calibrado para 25 mm Hg por 10 minutos. Decorrido o tempo de aplicação do vácuo os espécimes foram retirados do recipiente e tiveram os canais preenchidos pela abertura cervical da mesma forma como descrito para o grupo anterior, sendo também, na seqüência, mergulhados na mesma solução por 24 horas.

Os espécimes do grupo 5 foram fixados em uma lâmina de cera, mergulhados no corante azul-de-metileno e inseridos em um frasco dessecador de vidro com capacidade para 5 L , sob vácuo calibrado para 650 mm Hg mantendo-se o vácuo por 24 horas.

Os espécimes do grupo 6 foram da mesma forma fixados em uma lâmina de cera e inseridos em um vacuômetro cujo frasco principal estava acoplado a outro que continha a solução de azul-de-metileno. Após obtenção de vácuo de 30 mmHg o corante contido no frasco menor foi vertido para o frasco principal mantendo-se o vácuo por 24 horas (Figura 4.1)

Figura 4.1 - Vacuômetro acoplado a frasco destinado a conter a solução do corante azul-de-metileno

Ao término dos tempos experimentais da etapa anterior, os espécimes foram lavados em água corrente e irrigados com água destilada para a remoção do excesso do corante. A secagem foi realizada por aspiração e os espécimes colocados em estufa a 37 °C até não apresentarem mais sinais de umidade.

A seguir os espécimes tiveram suas raízes raspadas com lâmina de bisturi e foram escovados com escovas de aço em baixa rotação a fim de complementar a remoção mecânica do agente impermeabilizador.

Em todos os espécimes dos seis grupos foram realizados dois sulcos de orientação no sentido longitudinal às expensas de discos diamantados de dupla face e, com o auxílio de uma espátula, clivados no sentido ápico-cervical para a obtenção de duas metades de cada raiz. Cada hemiparte teve o canal preenchido com pasta zinco-enólica Lysanda conduzida em pequenas porções pela ponta de uma sonda exploradora reta, tendo em vista melhor visualizar o contorno do canal radicular, como também, impedir que leituras da impregnação do corante correspondentes à luz dos canais radiculares fossem feitas pelo sistema. Eventuais resíduos da pasta zinco-enólica que poderiam interferir na leitura da impregnação pelo corante eram sistematicamente removidos com lâmina de bisturi com auxílio do microscópio cirúrgico.

A aquisição das imagens das hemipartes de cada espécime foi obtida por meio de fotografia digital com a utilização de uma câmera Sony 3 CCD Donpisha, sistema de lentes Cannon de TV zoom, lentes macro de 69 mm sob o aumento de 10 vezes.

Para captação das imagens de cada hemiparte de cada espécime, as mesmas foram fixadas com pequenas porções de massa de modelagem preta sobre uma folha de papel sulfite também preto. A fixação dos espécimes com a massa para modelagem permitia que se ajustasse a posição do espécime de modo que a superfície a ser lida ficasse paralela ao plano das lentes sendo os ajustes aferidos com um *nível de bolha* montado em armação metálica. A montagem dos espécimes dessa forma impedia ademais a formação de sobras indesejáveis. Ainda em paralelo

aos espécimes inseria-se no campo de captura de imagens uma escala metálica milimetrada, servindo o espaço de 1 mm da mesma de padrão para conversão de pixels em mm^2 .

A iluminação do campo foi obtida com emprego de duas estativas e emissão de luz por lâmpadas fluorescentes tubulares. A distância entre a câmera fotográfica e os espécimes foi estabelecida em 60,6 cm. Após a padronização da distância focal e da iluminação, a aquisição das imagens foi efetuada sob ampliação de 10 vezes, salvando-se as imagens em arquivo do tipo *tagged file format* (TIFF).

- A - Conversão de pixels em mm^2
- B - Massa para modelagem
- C - Régua milimetrada

Figura 4.2 - Aquisição das imagens das hemipartes por meio do *software Leica Qwin*

4.2.2 método de avaliação

As imagens fotográficas digitais foram divididas em terços iguais com auxílio de uma grade virtual padronizada e com caselas correspondentes às regiões cervical, média e apical.

Figura 4.3 - Divisão da imagem em terços com o auxílio de uma grade virtual programada durante o estabelecimento da rotina do *software Leica Qwin*

Figura 4.4 - Imagem da hemiparte dividida em caselas correspondentes às regiões cervical, média e apical

4.2.3 aferição indireta em *software Leica Qwin*

Utilizou-se um analisador de imagens do tipo Q 550 IW da marca *Leica Qwin*, com o qual se montou uma rotina para a aquisição de imagens de forma padronizada. Na seqüência, montou-se uma segunda rotina trabalhando com a imagem já adquirida de forma a se detectar os diferentes níveis de azul da cor da amostra. Uma vez detectada, essa imagem foi editada de acordo com o conhecimento do operador de forma a demarcar as projeções da área de infiltração em milímetros quadrados. Obtidas as medidas de infiltração em cada hemiparte de cada espécime nos diferentes terços, essas

foram salvas em uma planilha no programa Excel para posterior tratamento estatístico dos dados. A cada início de um período de leitura o operador auto-calibrava-se efetuando 6 leituras da mesma imagem e, verificava desvio padrão dos valores obtidos. Quando o desvio era de pouca significância era dada continuidade às leituras

Figura 4.5 - Seleção da imagem do arquivo para efetuar a leitura no *software Leica Qwin*

Figura 4.6 - A área da imagem a ser analisada é demarcada automaticamente pelo software *Leica Qwin*

Figura 4.7 - Início da edição manual efetuada pelo operador demarcando as projeções da infiltração dentro da rotina estabelecida para a análise

Figura 4.8 - Edição da imagem feita manualmente pelo operador no *software Leica Qwin*

Figura 4.9 - Leitura da área total de demarcação do corante azul-de-metileno pelo *software Leica Qwin* após a edição manual efetuada pelo operador

Figura 4.10 - Seqüência na rotina de leitura da área total de demarcação do corante azul-de-metileno pelo *software* Leica Qwin

Figura 4.11 - Seqüência na rotina de leitura da área total de demarcação do corante azul-de-metileno pelo *software* Leica Qwin

Figura 4.12 - Leitura da área de demarcação do corante azul-de-metileno no terço cervical pelo software *Leica Qwin*

Figura 4.13 - Leitura da área de demarcação do corante azul-de-metileno no terço médio pelo software *Leica Qwin*

Figura 4.14 - Leitura da área de demarcação do corante azul-de-metileno no terço apical pelo *software* Leica Qwin

RESULTADOS

5 RESULTADOS

Os valores originais das leituras de cada espécime pelo sistema *Leica Qwin* relativos à área total de infiltração das hemipartes de cada espécime e suas respectivas médias considerando as diferentes formas de impregnação pelo azul-de-metileno nos 6 grupos experimentais estão alocados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 - Medidas em mm² das áreas totais de infiltração e respectivas médias das duas hemipartes considerando as diferentes formas de impregnação pelo corante azul-de-metileno nos 6 grupos experimentais

Ultra-som Gnatus G1	Ultra-som limpeza G2	Imersão passiva G3	Vácuo 25 10 min G4	Vácuo 650 mm 24h G5	Vácuo de 30 mm 24h G6
					62,112
54,682	44,579	60,528	61,790	34,453	69,869
49,212	46,670	58,470	54,39	41,617	63,335
57,437	52,703	62,364	44,078	52,420	63,809
53,459	52,776	60,676	50,281	51,967	47,953
49,374	67,378	61,415	62,554	59,998	44,881
51,314	68,534	59,735	50,822	58,865	59,131
57,776	65,558	68,260	42,379	59,676	65,239
52,182	63,204	72,084	46,466	68,428	55,189
54,671	63,492	75,396	51,468	64,349	58,803
56,113	68,338	85,726	43,831	60,992	58,235
55,794	56,118	51,390	70,331	59,472	67,417
59,391	50,357	56,373	67,770	60,270	68,064
59,730	58,856	67,890	64,478	76,507	56,191
60,180	59,917	65,651	62,778	74,894	52,499
57,770	66,087	54,962	51,802	58,615	56,692
58,042	68,212	47,264	50,909	50,472	65,130
53,663	59,746	51,734	52,966	51,387	60,292
52,658	55,032	50,707	43,319	53,204	50,603
53,120	48,154	53,6210	54,647	62,409	48,761
50,847	53,299	57,4590	50,788	61,400	
54,870*	58,450*	61,085*	53,892*	58,069*	58,710*

* Médias

Os dados constantes da Tabela 5.1 foram submetidos ao teste de aderência à curva de distribuição amostral normal e revelaram normalidade em sua distribuição, conforme Apêndice A.

Em vista disso optou-se por tratar os dados estatisticamente por meio da Análise de Variância, aplicando-se o teste de Tukey para diferenciação das médias (Tabelas 5.2, 5.3 e 5.4).

Tabela 5.2 - Análise de Variância relativa aos valores das áreas totais de infiltração das duas hemipartes considerando as diferentes formas de impregnação pelo corante azul-de-metileno nos 6 grupos experimentais

Análise de Variância: valores originais					
Fonte de variação	Soma de Quadr.	G.L.	Quadr. Médios	(F)	Prob.(H ₀)
Entre colunas	706,1250	5	141,2250	2,24	5,444%
Resíduo	7190,2188	114	63,0721		
Variação total	7896,3438	119			

Tabela 5.3 - Médias amostrais calculadas correspondentes aos valores das áreas totais de infiltração das duas hemipartes considerando as diferentes formas de impregnação pelo corante azul-de-metileno nos 6 grupos experimentais

Ultra-som Gnatus	54,87075
Ultra-som de limpeza	58,45049
Imersão passiva	61,08525
Vácuo 25 mm 10 min	53,91480
Vácuo 650 mm 24 hs.	58,06975
Vácuo 30 mm 24 hs.	58,71025

Tabela 5.4 - Teste de Tukey aplicado para diferenciação da significância entre as médias amostrais calculadas relativas às áreas totais de infiltração das duas hemipartes considerando as diferentes formas de impregnação pelo corante azul-de-metileno nos 6 grupos experimentais

Valor do resíduo na Análise de Variância	63,0721
Nível de probabilidade	5%
Número total de dados da amostra	120
Número de médias comparadas	6
Número de dados usados para cada média	20
Graus de liberdade do resíduo	114
Valor crítico de Tukey calculado	7,29160

A Tabela 5.5 expressa as diferenças entre médias e respectivas significâncias na comparação duas a duas em relação às seis variáveis de impregnação dos espécimes pelo agente traçador.

Tabela 5.5 - Comparação duas a duas entre as médias dos grupos experimentais

Condições experimentais	Diferenças entre médias	Significância*
US Gnatus X US limpeza	3,57974	n.s.
US Gnatus X imer. passiva	6,2145	n.s.
US Gnatus X vácuo 25	0,95595	n.s.
US Gnatus X vácuo 650	3,199	n.s.
US Gnatus X vácuo 30	3,8395	n.s.
US limpeza X imer passiva	2,63476	n.s.
US limpeza X vácuo 25	4,53569	n.s.
US limpeza X vácuo 650	0,38074	n.s.
US limpeza X vácuo 30	0,25976	n.s.
Imer. passiva X vácuo 25	7,17045	n.s.
Imer. passiva X vácuo 650	3,0155	n.s.
Imer. passiva X vácuo 30	2,375	n.s.
Vácuo 25 X vácuo 650	4,15495	n.s.
Vácuo 25 X vácuo 30	4,79545	n.s.
Vácuo 650 X vácuo 30	0,6405	n.s.

*Diferença mínima significativa acorde Teste de Tukey = 7,29160

Os dados referentes às leituras de cada hemiparte de cada um dos espécimes considerados os terços cervical, médio e apical e respectivas médias são apresentados na Tabela 5.6.

Tabela 5.6 - Valores em mm² correspondentes às leituras de cada uma das hemipartes considerados os terços cervical, médio e apical

	G1 Ultra-som Gnatus	G2 Ultra-som Limpeza	G3 Imersão passiva	G4 Vácuo 25 mm 10 m	G5 Vácuo 650 mm 24 h	G6 Vácuo 30 mm 24 h
Cervical	25,00	23,57	28,70	30,03	16,82	28,05
	24,60	26,19	27,04	23,41	15,59	32,05
	23,46	25,66	23,26	17,19	25,16	28,14
	22,10	25,70	24,35	20,81	27,59	31,30
	21,04	26,32	26,64	29,01	29,29	36,10
	22,22	26,83	25,44	28,82	29,32	31,80
	27,70	30,26	36,06	21,40	29,27	25,01
	25,89	31,06	36,65	21,85	31,75	28,35
	28,05	29,69	28,26	20,35	32,44	28,76
	27,85	29,48	31,23	16,76	32,52	31,42
	22,69	25,47	26,61	26,01	24,35	31,72
	24,71	23,17	27,96	25,51	25,24	29,59
	29,32	23,70	27,40	28,01	31,38	29,93
	30,45	29,87	27,45	26,37	30,00	28,04
	24,83	28,61	25,53	27,46	18,13	24,92
	26,77	32,94	21,64	27,55	15,99	25,75
	17,77	33,58	24,42	30,62	32,88	29,62
	18,22	31,23	28,87	27,77	28,47	30,56
	26,36	23,86	18,01	25,25	25,41	27,7
	28,63	26,59	23,16	24,81	26,37	27,06
Médias	24,88	27,68	26,93	24,94	26,39	29,29
Médio	22,88	18,47	25,11	21,66	12,99	22,42
	19,19	16,61	25,65	22,32	18,99	25,82
	23,12	21,30	29,48	23,63	20,08	24,23
	23,78	21,12	27,61	25,50	17,67	23,27
	19,17	29,78	25,96	25,21	16,97	11,84
	20,74	29,14	25,69	20,80	17,72	11,71
	20,47	25,19	28,18	15,92	23,60	26,44
	19,91	23,02	28,06	18,32	27,31	28,16
	19,97	26,02	28,03	21,65	25,10	22,43
	20,42	31,01	31,56	20,13	20,83	23,17
	21,45	22,63	21,14	28,68	25,69	23,22
	21,65	21,72	20,80	26,05	27,19	25,24
	22,89	24,71	27,01	25,90	30,53	25,34
	23,99	24,27	25,72	26,91	31,11	24,08
	25,28	28,71	21,65	21,59	24,50	21,62
	23,93	26,82	20,79	21,11	23,06	23,51
	22,66	25,56	21,17	16,16	17,87	26,70
	22,44	22,65	19,75	10,24	23,52	25,24
	18,45	17,91	25,16	23,26	25,95	15,25
	13,93	20,51	22,85	19,46	24,91	15,38
Médias	21,36	23,85	25,06	21,72	22,77	22,75

continua

conclusão

G1 Ultra-som Gnatus	G2 Ultra-som Limpeza	G3 Imersão passiva	G4 Vácuo 25 mm 10 m	G5 Vácuo 650 mm 24 h	G6 Vácuo 30 mm 24 h	G1 Ultra-som Gnatus
Apical	6,810	2,550	6,720	10,10	4,650	11,64
	5,430	3,870	5,780	9,110	7,040	12,00
	10,86	5,740	9,630	3,260	7,190	10,97
	7,580	5,950	8,710	3,970	6,710	9,240
	9,170	11,28	8,820	8,330	13,74	0,010
	8,350	12,56	8,610	1,200	11,82	1,380
	9,610	10,11	4,020	5,060	6,810	7,670
	6,380	9,130	7,370	6,290	9,370	8,730
	6,650	7,780	19,11	9,470	6,810	4,000
	7,840	7,850	22,94	6,940	7,650	4,220
	11,65	8,010	3,630	15,64	9,430	3,300
	13,03	5,470	7,620	16,21	7,840	12,59
	7,520	10,50	13,49	10,57	14,60	12,80
	5,740	5,780	12,48	9,500	13,78	4,070
	7,660	8,780	7,780	2,750	15,99	5,950
	7,340	8,460	4,830	2,250	11,42	7,440
	13,24	0,600	6,140	6,190	0,640	8,800
	12,00	1,150	2,090	5,310	1,210	4,490
	8,320	6,390	10,45	6,160	11,06	7,660
	8,290	6,200	11,45	6,510	10,12	6,320
Médias	8,67	6,90	9,080	7,240	8,890	7,160

Esses dados também foram submetidos ao teste de aderência à curva de distribuição amostral normal (Apêndice B) direcionando a continuidade do tratamento estatístico dos dados para testes paramétricos.

Seguiu-se então nova Análise de Variância e mais dois testes de Tukey para diferenciação das médias. Um primeiro considerando as colunas (condições experimentais) e outro para diferenciação das médias entre linhas (terços cervical, médio e apical) e das médias de interação entre as linhas e as colunas conforme Tabelas que seguem.

Tabela 5.7 - Análise de Variância consideradas as leituras da impregnação pelo corante azul-de-metileno nos terços cervical, médio e apical

Fonte de Variação	Soma de Quadr.	G.L.	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H ₀)
Entre colunas	235,0562	5	47,0112	2,24	5,4502%
Resíduo I	2394,2251	114	21,0020		
Entre linhas	23373,2148	2	11686,6074	886,28	0,0000 %
Interação L x C	346,0852	10	34,6085	2,62	0,5111 %
Resíduo II	3006,4343	228	13,1861		
Variação total	29355,0156	359			

A Tabela 5.8 expressa as médias relativas ao fator de variação condição experimental.

Tabela 5.8 - Médias amostrais calculadas considerando o fator de variação condições experimentais

Ultra-som Gnatus:	18, 29083
Ultra-som limpeza:	19,48400
Imersão passiva:	20,36199
Vácuo 25 mm 10 m:	17,97183
Vácuo 650 mm 24 h:	19,34067
Vácuo 30 mm 24 h:	19,57033

Visando a diferenciação dessas médias quanto suas possíveis significâncias foi aplicado o Teste de Tukey, considerando o Resíduo I = 21,0020, correspondente aos quadrados médios entre colunas, conforme tabela 5.9.

Tabela 5.9 - Teste de Tukey correspondente às médias amostrais calculadas relativas às leituras de cada uma das hemipartes considerados os terços cervical, médio e apical

Valor do resíduo na Análise de Variância	21,0020
Nível de probabilidade	5%
Número total de dados da amostra	360
Número de médias comparadas	6
Número de dados usados para cada média	60
Graus de liberdade do resíduo	114
Valor crítico de Tukey calculado	2,42914

A Tabela 5.10 corresponde à comparação, duas a duas, e respectiva significância, em relação às médias amostrais calculadas relativas às leituras de cada uma das hemipartes considerados os terços cervical, médio e apical.

Tabela 5.10 - Médias e respectivas significâncias, consideradas comparações, duas a duas, relativas às diferentes condições experimentais

Condições experimentais	Diferenças entre médias	Significância*
US Gnatus X US limpeza	1,19317	n.s.
US Gnatus X imer. passiva	2,07116	n.s.
US Gnatus X vácuo 25	0,31900	n.s.
US Gnatus X vácuo 650	1,04984	n.s.
US Gnatus X vácuo 30	1,27950	n.s.
US limpeza X imer passiva	0,87799	n.s.
US limpeza X vácuo 25	1,51217	n.s.
US limpeza X vácuo 650	0,14333	n.s.
US limpeza X vácuo 30	0,08633	n.s.
Imer. passiva X vácuo 25	2,39016	n.s.
Imer. passiva X vácuo 650	1,02132	n.s.
Imer. passiva X vácuo 30	0,79166	n.s.
Vácuo 25 X vácuo 650	1,36884	n.s.
Vácuo 25 X vácuo 30	1,59850	n.s.
Vácuo 650 X vácuo 30	0,22966	n.s.

*Diferença mínima significante acorde Teste de Tukey = 2,42914

Considerando que nenhuma diferença entre as médias foi igual ou superior ao valor crítico de Tukey calculado (2,42914), não se verificou diferença estatística significativa entre as formas utilizadas para impregnar os dentes com o corante azul-de-metileno.

A Tabela 5.11 mostra as médias das infiltrações nos diferentes terços independentemente da condição experimental.

Tabela 5.11 - Fator de variação quanto à diferenciação dos terços, a partir das médias obtidas

Fator de variação: terços
Cervical: 26,68292
Médio: 22,83334
Apical: 7,99358

Empregando os quadrados médios do Resíduo II = 13,1861, diferenciamos, por meio do teste de Tukey, as médias entre colunas e as médias relativas à interação entre colunas e linhas, acorde Tabelas que seguem.

Tabela 5.12 - Teste de Tukey relativo à diferenciação das médias amostrais calculadas entre as colunas constantes da Tabela 5.6, válido também para a interação colunas X linhas, ou seja: condição experimental X terços

Cálculo do valor crítico de Tukey	
Valor do resíduo na Análise de Variância	13,1861
Nível de probabilidade	5%
Número total de dados da amostra	360
Número de médias comparadas	18
Número de dados usados para cada média	20
Graus de liberdade do resíduo	228
Valor crítico de Tukey calculado	4,05005

Da Tabela 5.13 constam os contrastes dois a dois e respectivas significâncias entre as médias correspondentes ao fator de variação terços.

Tabela 5.13 - Contrastes dois a dois e respectivas significâncias entre as médias correspondentes ao fator de variação terços

Fator de variação: terços		
Contraste entre os terços	Diferenças entre médias	Significância
Cervical X Médio	3,84958	n.s.
Cervical X Apical	18,68934	sig.
Médio X Apical	14,83976	sig.

Na tabela 5.14 estão expressos os valores das médias em cada situação experimental e nos diferentes terços avaliados.

Tabela 5.14 - Médias das interações terços X condições experimentais

Interação: terços x condições experimentais	
Terço cervical x US Gnatus	24,88300
Terço Cervical x Ultra-som de limpeza	27,68900
Terço cervical x Imersão passiva	26,93400
Terço cervical x vácuo 25 mm 10 m	24,94950
Terço cervical x vácuo 650 mm 24 h	26,34850
Terço cervical x vácuo 30 mm 24 h	29,29350
Terço médio x US Gnatus	21,31600
Terço médio x Ultra-som de limpeza	23,85750
Terço médio x Imersão passiva	25,06850
Terço médio x vácuo 25 mm 10 m	21,72500
Terço médio x vácuo 650 mm 24 h	22,77950
Terço médio x vácuo 30 mm 24 h	22,25350
Terço apical x US Gnatus	8,67350
Terço apical x Ultra-som de limpeza	6,90550
Terço apical x Imersão passiva	9,08350
Terço apical x vácuo 25 mm 10 m	7,24100
Terço apical x vácuo 650 mm 24 h	8,89400
Terço apical x vácuo 30 mm 24 h	7,16400

As tabelas 5.15, 5.16 e 5.17 correspondem aos resultados estatísticos relativos à interação linhas X colunas. Foi organizada uma comparação entre médias considerando os terços X condições isoladamente.

Tabela 5.15 - Diferenças entre médias e significância da interação terços X condições experimentais, considerado o terço cervical isoladamente

Interação: terços x condições Terço considerado: cervical		
Condição	Diferenças entre médias	Significância
U.S. Gnatus x U.S. limpeza	2,806	n.s.
U.S. Gnatus x Imer. pass.	2,051	n.s.
U.S. Gnatus x vácuo 25	0,066	n.s.
U.S. Gnatus x vácuo 650	1,465	n.s.
U.S. Gnatus x vácuo 30	4,410	sig.
U.S. limpeza x Imer. pass.	0,877	n.s.
U.S. limpeza x vácuo 25	2,390	n.s.
U.S. limpeza x vácuo 650	0,143	n.s.
U.S. limpeza x vácuo 30	0,086	n.s.
Imer. pass. x vácuo 25	2,390	n.s.
Imer. pass. x vácuo 650	0,585	n.s.
Imer. pass. x vácuo 30	2,359	n.s.
Vácuo 25 x vácuo 650	1,399	n.s.
Vácuo 25 x vácuo 30	4,344	sig.
Vácuo 650 x vácuo 30	2,945	n.s.

Tabela 5.16 - Diferenças entre médias e significância da interação terços X condições experimentais, considerado o terço médio isoladamente

Interação: terços x condições Terço considerado: médio		
Condição	Diferenças entre médias	Significância
U.S. Gnatus x U.S. limpeza	2,541	n.s.
U.S. Gnatus x Imer. pass.	4,369	sig.
U.S. Gnatus x vácuo 25	0,409	n.s.
U.S. Gnatus x vácuo 650	1,463	n.s.
U.S. Gnatus x vácuo 30	0,937	n.s.
U.S. limpeza x Imer. pass.	1,211	n.s.
U.S. limpeza x vácuo 25	2,132	n.s.
U.S. limpeza x vácuo 650	1,078	n.s.
U.S. limpeza x vácuo 30	1,604	n.s.
Imer. pass. x vácuo 25	3,343	n.s.
Imer. pass. x vácuo 650	2,289	n.s.
Imer. pass. x vácuo 30	2,815	n.s.
Vácuo 25 x vácuo 650	1,054	n.s.
Vácuo 25 x vácuo 30	0,528	n.s.
Vácuo 650 x vácuo 30	0,526	n.s.

Tabela 5.17 - Diferenças entre médias e significância da interação terços X condições experimentais, considerado o terço apical isoladamente

Interação: terços x condições Terço considerado: apical		
Condição	Diferenças entre médias	Significância
U.S. Gnatus x U.S. limpeza	1,768	n.s.
U.S. Gnatus x Imer. pass.	0,410	n.s.
U.S. Gnatus x vácuo 25	1,432	n.s.
U.S. Gnatus x vácuo 650	0,220	n.s.
U.S. Gnatus x vácuo 30	1,509	n.s.
U.S. limpeza x Imer. pass.	2,178	n.s.
U.S. limpeza x vácuo 25	0,335	n.s.
U.S. limpeza x vácuo 650	1,988	n.s.
U.S. limpeza x vácuo 30	0,258	n.s.
Imer. pass. x vácuo 25	1,842	n.s.
Imer. pass. x vácuo 650	0,189	n.s.
Imer. pass. x vácuo 30	1,919	n.s.
Vácuo 25 x vácuo 650	1,653	n.s.
Vácuo 25 x vácuo 30	0,077	n.s.
Vácuo 650 x vácuo 30	1,734	n.s.

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O estudo da permeabilidade dentinária radicular humana aponta para um importante aspecto do tratamento endodôntico: a sanificação do sistema de canais radiculares, aspecto esse, de particular interesse à Endodontia, haja vista, a enorme atenção dada por parte de pesquisadores no que concerne ao referido assunto.

Ao aumento da permeabilidade dentinária radicular, por meio de substâncias químicas específicas associadas aos instrumentos endodônticos, recai a responsabilidade em se obter a eliminação do maior número de microrganismos alojados na superfície do canal radicular como também, no âmago da massa dentinária, favorecendo a ação da medicação intracanal, bem como, o selamento promovido pelo material obturador.

Diferentes enfoques têm sido dados a esse assunto e, particular atenção voltada para a busca de metodologias de estudo sob rigor técnico e resultados confiáveis.

O rol da pesquisa endodôntica mostra grande incidência de discussões concernentes à validade metodológica, referentes não só ao uso de diferentes agentes traçadores, como também na seleção do método de avaliação da impregnação oferecida pelo mesmo, quando da quantificação da microinfiltração ou da permeabilidade na dentina radicular humana.

De outra parte, o questionamento amplia-se em torno das formas a que os espécimes são submetidos quando se deseja que os mesmos absorvam um agente indicador.

Frente a isso, propomo-nos a avaliar se de fato, variando-se o método de impregnação decorrem diferenças entre os espécimes. Para tanto elegemos como

agente traçador uma solução de azul-de-metileno que foi aplicada em 60 dentes humanos.

Em tempos passados agentes traçadores como marcadores de infiltração já vinham sendo utilizados como método de estudo buscando quantificar microinfiltração ou permeabilidade da dentina. Para tal, Fish (1927; 1933* apud GOING 1960) e Antoniazzi, Mjør e Nygaard-Østby (1968) se valeram do uso de corantes, como Dow e Ingle (1958) e Marshall; Massler e Dute (1960) usaram isótopos radioativos.

Atualmente, o método de penetração de corantes como agente traçador continua sendo preconizado e encontra-se descrito em inúmeras publicações (AHLBERG; ASSAVANOP; TAY, 1995; ANTONIAZZI, 1982; ANTONOPOULOS; ATTIN; HELLVIG, 1998; CAMPS; PASHLEY, 2003; CIPELLI; BOMBANA; ANTONIAZZI, 1995; DICKSON; PETERS, 1993; EVANS; SIMONS, 1986; FORD, 1979; FROIS et al. 1981; GOLDMAN; SIMMONDS; RUSH, 1989; GONDIM; KIM; SOUZA-FILHO, 2005; GREMPEL; ANTONIAZZI, PAIVA, 1990; HAMAOKA; MOURA, 1996; KUHRE; KESSLER, 1993; LAGE - MARQUES, 1990; LUOMANEN; TUOMPO, 1985; MASTERS; HIGA; TORABINEJAD, 1995; MOURA; PAIVA, 1989; MOURA; ROBAZZA; PAIVA, 1978; OLIVER; ABBOTT, 1991; OLIVER; ABBOTT, 1998; PATHOMVANICH; EDMUNDS, 1996; RICCI; KESSLER, 1994; ROBAZZA; PAIVA; ANTONIAZZI, 1981; ROUX; DOMEJEAN-ORLIAGHET; SAAD, 2002; RUSSIN et al. 1980; SCHNELL, 1978; SCOTT; VIRE; SWANSON, 1992; SPANGBERG; ACIERNO; CHA, 1989; SPRADLING; SENIA, 1982; STARKEY; ANDERSON; PASHLEY, 1993; TEWARI; TEWARI, 2002; VEIS; LAMBRIANIDES; NICOLAOU, 1996; ZMENER; PAMEIJER; MACRI, 2005; WIMONCHIT; TIMPAWAT;

* Fish EW. A n experimental investigation of enamel, dentin and dental pulp. London, John Bales Sons and Danielsson, Ltd., 1933.

VONGSAVAN, 2002; WU; WESSELINK, 1993; YOUNGSON et al. 1998) Embora em sua grande maioria as publicações consagrem os testes envolvendo a infiltração de corantes como agentes traçadores, a crítica recai sobre o fato de não haver padronização na metodologia de utilização dos mesmos. Tal fato foi salientado por Wu e Wesselink em 1993, quando após analisarem o número de trabalhos referenciados na literatura de 1980 a 1990 observaram alto índice de variação nos resultados embora os métodos utilizados tenham sido similares. Alicerçados em tal fato, os autores questionam a confiabilidade dos resultados aventando para a necessidade de maior rigor metodológico quando se busca analisar microinfiltração.

Nesse particular, para quantificar os níveis de impregnação da dentina radicular humana frente à variação nos métodos de impregnação elegemos como substância uma solução de azul-de-metileno a 0,5% e pH 7. A escolha desse agente traçador prendeu-se a diversos aspectos. Prioritariamente por serem as soluções desse corante as mais empregadas em pesquisas de microinfiltração e de permeabilidade dentinária humana em estudos na área de Endodontia (AHLBERG; ASSAVANOP; TAY, 1995; AL-GHAMDI; WENNBORG, 1984; ANTONIAZZI, 1982; CAMPS; PASHLEY, 2003; CIPELLI; BOMBANA; ANTONIAZZI, 1995; DICKSON; PETERS, 1993; EVANS; SIMONS, 1986; FORD, 1979; FROIS et al. 1981; GOLDMAN; SIMMONDS; RUSH, 1989; GONDIM; KIM; SOUZA-FILHO, 2005; GREMPEL; ANTONIAZZI, PAIVA, 1990; HAMAOKA; MOURA, 1996; LAGE - MARQUES, 1990; LUOMANEN; TUOMPO, 1985; MASTERS; HIGA; TORABINEJAD, 1995; MOURA; PAIVA, 1989; MOURA; ROBAZZA; PAIVA, 1978; OLIVER; ABBOTT, 1998; PATHOMVANICH; EDMUNDS, 1996; ROBAZZA; PAIVA; ANTONIAZZI, 1981; ROUX; DOMEJEAN-ORLIAGHET; SAAD, 2002; RUSSIN et al. 1980; SCHNELL, 1978; SCOTT; VIRE; SWANSON, 1992; SPANGBERG; ACIERNO;

CHA, 1989; SPRADLING; SENIA, 1982; STARKEY; ANDERSON; PASHLEY, 1993; TEWARI; TEWARI, 2002; ZMENER; PAMEIJER; MACRI, 2005; WIMONCHIT; TIMPAWAT; VONGSAVAN, 2002; WU; WESSELINK, 1993; YOUNGSON et al. 1998).

Para mais, o emprego de soluções de azul-de-metileno implica em custos baixos, é de reconhecida capacidade de penetração em dentina e de uso que não requer equipamentos, acessórios complexos ou aparatos de maior especificidade.

Comungando com a opinião de Antoniazzi, Mjør e Nygaard-Østby (1968), preferimos o azul-de-metileno também por oferecer elevada acurácia nas avaliações em que é empregado. Seguindo ainda abalizado aconselhamento desses autores ajustamos o pH da solução em 7, dado fato de ser o azul-de-metileno um ácido que pode dissolver a porção inorgânica dos tecidos e, ao tornar-se alcalino em demasia, a solução pode converter-se em leuco azul-de-metileno totalmente descolorido.

Essa preferência pela seleção do azul-de-metileno como agente traçador é reforçada também por não reagir com o tecido duro e ser facilmente detectada (AL-GHAMDI; WENNBORG, 1994).

A concentração e o tempo de contato com o azul-de-metileno utilizado neste experimento foram embasados no trabalho de Macedo (2003), no qual após analisar o comportamento desse agente traçador em duas concentrações, 0,5 e 2% e, nos tempos experimentais de 24 e 48 horas, não observou diferenças estatisticamente significantes nos resultados.

Reforça ainda a escolha da concentração de 0,5% o fato de já ter sido empregada por Robazza, Paiva e Antoniazzi, 1981; Moura e Paiva (1989); Antoniazzi (1982); Grempel, Antoniazzi e Paiva, 1990; Marques (1990); Cipelli, Bombana e

Antoniazzi, 1995; Hamaoka e Moura (1996); Fróis (1999); Lauretti (1999); Ferreira (2001); Macedo (2003).

Outros cuidados metodológicos tiveram oportunidade. Preocupados com o alertado por Macedo (2003) de que a clivagem por gerar superfícies irregulares pode dificultar a obtenção de imagens fotográficas optamos por fixar as hemipartes de cada espécime sobre um bloco de massa de modelar, condição propícia para o ajuste do plano horizontal dos espécimes ao plano horizontal das lentes. Para confirmar essa condição favorável à obtenção das imagens empregamos um *nível de bolha* montado em armação metálica, acomodando-se os espécimes sobre papel preto a fim de ter controle sobre possíveis sombreamentos e, ainda em paralelo aos espécimes foi depositada uma escala padrão milimetrada fornecedora de medida absoluta.

Os cuidados metodológicos estenderam-se ademais para a posição e uniformização das condições de iluminação, bem como, para a manutenção de uma distância focal única para todos os espécimes.

As imagens foram obtidas sob ampliação de 10 vezes e, salvas em arquivo do tipo *tagged file format* (TIFF) que permite melhor caracterização da imagem digital, tanto para uso em impressão quanto para a análise digital (CASTILLERO, 1999).

O emprego de imagens digitalizadas para esse mister encontra amparo em Lemos et al. (2002) que preconizam o uso da imagem digitalizada, ressaltando que a obtenção da mesma por meio de câmara digital oferece facilidade na obtenção da imagem final e propicia elevados padrões de resolução.

Macedo (2003) relata ainda que a análise digital necessita a melhor resolução possível, exigindo um *arquivo pesado* tanto em memória de trabalho

(*Random Access Memory - RAM*) como em mídia, mas que mantenha a fidelidade dos tons o mais próximo possível dos originais. A área de sombra produzida durante a obtenção das imagens de superfícies irregulares pode gerar falsas colorações, o que pode tornar a distinção pelo software bastante prejudicada. Detalhe esse, controlado neste experimento, uma vez que obtivemos imagens digitais sem projeção de sombras.

As imagens fotográficas digitais foram virtualmente divididas em terços iguais correspondentes às regiões cervical, média e apical. Utilizou-se para tal procedimento, o analisador de imagens *Leica Qwin*, com o qual se montou uma rotina para a aquisição de imagens de forma padronizada. Na seqüência, foi montada uma segunda rotina trabalhando com a imagem já adquirida de forma a se detectar os diferentes tons de azul constantes das amostras. Uma vez detectada, essa imagem foi editada manualmente pelo operador previamente calibrado para demarcar as projeções das áreas de infiltração convertidas automaticamente pelo *software* em milímetros quadrados, tendo-se ainda o cuidado de verificar a cada período de leitura a calibragem do operador, conforme já descrito no capítulo de Material e Métodos.

Podemos afirmar que *softwares* cada vez mais avançados vêm sendo utilizados para a leitura de imagens digitalizadas em Endodontia. Sob esse aspecto destacamos os trabalhos de Hamaoka e Moura (1996) que se valeram do DIRACOM3. Já em 1999 Lauretti utilizou o ImageLab3, da mesma forma que, Macedo (2003) valeu-se do ImageLab e do *Leica Qwin*, sendo esses apenas alguns dos autores que nos últimos lustros empregaram meios computadorizados para a leitura dos resultados de experimentos.

Em relação aos métodos de leitura das áreas demarcadas na dentina, o mais crítico é a subjetividade assumida pelo operador, uma vez em que há a necessidade em se delimitar a área a ser mensurada (FRÓIS et al. 1981; HAMAOKA; MOURA, 1996; LAURETTI, 1999; MACEDO, 2003; MARSHALL; MASSLER; DUTE, 1960; PALAMARA et al., 2000; SCOTT; VIRE; SWANSON, 1992; WU; WESSELINK, 1993; YOUNGSON et al., 1998). Nesses métodos de leitura o operador determina a área demarcada pelo agente traçador, sendo que, conforme levantado por Scott, Vire e Swanson (1992), quanto mais distante do canal radicular mais tênue se torna a impregnação, dificultando sobremaneira essa interpretação. Segundo esse autor, é possível que isso ocorra em função do calibre dos túbulos dentinários se tornarem de menor tamanho na medida em que se aproximam do limite dentina-cimento, permitindo somente a penetração de partículas de menor tamanho.

Ainda no que se refere a *softwares*, Macedo (2003) comparou diferentes métodos de leitura em testes de impregnação de corantes a partir da obtenção de imagens digitais em hemipartes de espécimes submetidos à clivagem e, analisados de forma quantitativa. Para tal, baseado na análise proposta por Marshall, Massler e Dute (1960) substituiu a análise por projeção pela forma de impressão. Os outros métodos utilizados foram obtidos pelo processamento de imagens nos *softwares* ImageLab e *Leica Qwin*. Nessa pesquisa a autora concluiu que, os métodos de leitura propostos são comparáveis nos resultados obtidos, sugerindo a possibilidade de se utilizar quaisquer deles para análise da área de infiltração em dentina corada, estando a escolha vinculada à acessibilidade aos métodos e ao conhecimento de processamento de imagens.

Tendo em vista o até aqui considerado, neste trabalho nos propusemos a comparar os níveis de impregnação da dentina humana por um agente traçador em razão do grande número de questionamentos metodológicos que incidem sobre o assunto, alegando alguns autores ser a presença de ar no interior dos túbulos dentinários fator comprometedor (EVANS; SIMON, 1986; GOLDMAN; SIMMONDS RUSH, 1989; OLIVER; ABBOTT, 1991; OLIVER; ABBOTT, 1998; PATHOMVANICH; EDMUNDS, 1996; RICCI; KESSLER, 1994; RUSSIN et al. 1980; SPANGBERG; ACIERNO; CHA, 1989; SPRADLING; SENIA, 1982; STARKEY; ANDERSON; PASHLEY, 1993; VEIS; LAMBRIANIDES; NICOLAOU, 1996; WIMONCHIT; TIMPAWAT; VONGSAVAN, 2002), enquanto outros, não partilham dessa assertiva (ANTONOPOULOS; ATTIN; HELLWIG, 1998; DICKSON; PETERS, 1993; MASTERS; HIGA; TORABINEJAD, 1995).

Para tal, valemo-nos de 6 diferentes métodos de impregnação: a agitação da solução corante com uma lima endodôntica acoplada a um ultra-som com fins endodônticos por 10 minutos e imersão na solução de azul-de-metileno por 24 horas; a vibração em uma cuba de ultra-som para limpeza por 10 minutos e submersão no corante por 24 horas; a imersão passiva por 24 horas; o uso de vácuo calibrado para 25 mm Hg por 10 minutos e posterior submersão por 24 horas; a utilização de vácuo calibrado para 650 mm Hg por 24 horas e, finalmente o uso de vácuo calibrado para 30 mm Hg também por 24 horas. Os espécimes foram clivados no sentido cérvico-apical e a quantificação da marcação do corante medida em milímetros quadrados sob análise do *software Leica Qwin* em imagem digital, avaliando os tons de azul conforme pré-estabelecido na rotina do *software*.

Propomo-nos a realizar três avaliações: na primeira foram reportados os resultados relativos à área total da infiltração por espécime frente às seis diferentes

formas de impregnação do corante azul-de-metileno. Em uma segunda avaliação foram consideradas as diferentes formas de impregnação e os diferentes terços radiculares e, na seqüência a condição de impregnação do agente traçador nos diferentes terços comparados entre si.

Em relação às diferentes formas de impregnação, ao considerarmos o experimento globalmente, nenhuma condição experimental foi melhor do que outra no impregnar pelo corante azul-de-metileno em dentina humana tratada sob a crítica uniformidade descrita no capítulo de Material e Métodos, conforme dados constante na tabela 5.5 do capítulo de Resultados.

Nossos resultados vêm ao encontro dos achados de Dickson e Peters (1993) que demonstram não existir significância nos resultados frente à utilização do vácuo e a imersão passiva. Nesse trabalho os autores se valeram de vácuo calibrado para 25 mm Hg por 30 minutos e imersão passiva por um período de 5 dias utilizando como agente traçador, a tinta da Índia.

Da mesma forma, nossos resultados partilham daqueles obtidos por Masters, Higa e Torabinejad (1995), onde a infiltração passiva e o uso de vácuo calibrado para 25 mm Hg por 10 minutos coincidem com dois dos métodos experimentais por nós efetuados, diferindo entre o experimento de Masters, Higa e Torabinejad (1995) e este, apenas na concentração do corante (2%) e no tempo de imersão (72 horas), mas com a obtenção dos mesmos resultados, ou seja, sem diferença estatística significativa quando do emprego desses métodos.

Nossos resultados confirmam ainda as observações de Antonopoulos, Attin e Hellwig (1998) que ao avaliarem diferentes métodos de análise da infiltração (penetração passiva e a utilização de vácuo calibrado para 60 mm Hg por 10 minutos) e submersão em tinta da Índia por 7 dias, não verificaram diferença

significante entre a penetração passiva e a utilização do vácuo. Ainda nessa mesma pesquisa uma terceira avaliação foi realizada às expensas do método de penetração sob condição de alta pressão (autoclave com 200 MPa) empregando então Rhodamine B. Segundo os referidos autores na condição experimental sob alta pressão os resultados apresentaram-se significativamente baixos, de forma a não recomendar o uso desse artifício quando se avalia a capacidade de selamento na obturação do canal radicular.

Por outro lado, nossos resultados são contrários aos alcançados por Goldman, Simmonds e Rush (1989). No que tange a utilização do vácuo, afirmaram esses autores que os resultados são indiscutíveis; e, lançam dúvidas sobre metodologias que não se valem dessa alternativa antes da imersão em corante ou radioisótopos. Creditam essa assertiva ao fato da remoção prévia do ar ser forma que propicia a completa repleção do agente traçador em todos os casos. Quando se analisa o método empregado pelos autores chama a atenção o curto período de tempo em que os espécimes ficaram em contato com o agente indicador, período esse restrito a 3 horas. Por outro lado, empregaram como corante uma solução de 1% de violeta genciana, indicador de uso muito raro em pesquisas endodônticas, portanto, de comportamento pouco estudado em avaliações de infiltração marginal ou em relação à permeabilidade dentinária.

Da mesma forma, Spangberg, Acierno e Cha (1989) comparando imersão passiva e imersões sob vácuo entendem serem os resultados obtidos diante do uso desse último expediente mais favorável do que aqueles vistos na simples imersão passiva.

Starkey, Anderson e Pashley (1993) também advogam a superioridade dos resultados ao observarem a impregnação sob vácuo perante a forma passiva.

Frente ao exposto e diante dos resultados obtidos em nosso experimento consideramos as diferentes formas de impregnação utilizando a solução corante de azul-de-metileno como substância evidenciadora, métodos bem indicados quando se avalia a permeabilidade da dentina radicular humana em pesquisas endodônticas, justificando assim, porque a metodologia de aplicação de agentes traçadores do tipo corante continua sendo um recurso de ampla utilização em estudos em Endodontia.

No desenvolver do preparo químico-cirúrgico dos canais radiculares neste experimento empregamos como substância química auxiliar, o creme de Endo PTC reagindo por uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% acorde Paiva e Antoniazzi (1991). Optou-se por essa forma de proceder dado o fato de se encontrar significativo respaldo na literatura no que tange à capacidade desses procedimentos promoverem o aumento da permeabilidade dentinária conforme atestado por Moura; Robazza e Paiva (1978) e Robazza, Paiva e Antoniazzi (1981).

Em relação à estrutura molecular do corante azul-de-metileno, Santamarina et al. (2002) observaram que a mesma apresenta formato retangular e que, em solução aquosa, o azul-de-metileno comporta-se como um corante catiônico, podendo apresentar área de alcance variável determinando maior ou menor área de demarcação propiciada pelo corante, acorde a disposição em que molécula contata a superfície a ser infiltrada.

Em se tratando de infiltração em espaços reduzidos como túbulos dentinários se a molécula tocar a parede dentinária, considerando seu maior eixo, menor será a probabilidade de penetração. Quando as moléculas desse corante têm oportunidade de alinhar-se horizontalmente em relação à entrada dos túbulos dentinários considerando-se agora seu menor eixo molecular, meramente por uma

questão de magnitude física, maior será a probabilidade de que acesse a intimidade da estrutura dentinária.

Em vista disso em dois de nossos grupos experimentais empregamos dois tipos de ultra-som (um de fins endodônticos e outro destinado a limpeza) como meios agitadores da solução de azul-de-metileno a fim de verificar se esses recursos nos levariam a um maior nível de impregnação da dentina em relação à imersão passiva ou em relação ao uso do vácuo. Nossos resultados aclararam não existirem diferenças estatísticas significantes entre as condições experimentais propostas, na medida em que as consideramos como um todo. Porém, quando considerados os terços radiculares isoladamente, comparados às diferentes formas de impregnação do agente traçador em 5 eventos do experimento, tivemos oportunidade para o surgir de valores estatisticamente significantes diante do contraste das médias.

Ao compararmos as diferentes condições experimentais considerando o terço cervical isoladamente, dois dos eventos mostraram significância nos resultados. O grupo experimental utilizando o ultra-som de fins endodônticos e como tal, promovendo a agitação da substância evidenciadora no interior do canal por um período de 10 minutos, mostrou menor nível de infiltração do corante azul-de-metileno quando comparado ao vácuo calibrado para 30 mm Hg por 24 horas. A superioridade dos resultados do método de imersão sob vácuo demonstrou que a agitação mecânica por meio do ultra-som não promoveu o esperado aumento da área de marcação propiciada pelo agente traçador azul-de-metileno considerando as condições concebidas para este experimento.

Da mesma forma que, o vácuo calibrado para 30 mm de Hg por 24 horas mostrou-se superior nos resultados quando da interação com o grupo calibrado para 25 mm Hg por 10 minutos, também em nível do terço cervical.

Esses resultados vêm ao encontro a um dos objetivos iniciais dessa pesquisa buscando comparar se as diferentes condições de vácuo empregadas poderiam ou não apresentar comportamentos distintos.

Sendo assim, quando analisamos o terço cervical isoladamente, os resultados corroboram para a diferença de comportamento entre os métodos conforme acima considerado. Porém, sendo esses resultados pertinentes ao terço cervical consideramos de menor significância até porque, é o terço apical a região em que os aspectos relativos à permeabilidade envolvem maiores interesses à prática endodôntica.

Da mesma forma que, frente à diferença entre as médias e a significância das interações consideradas também no terço médio observaram-se diferenças estatisticamente significantes entre os grupos do ultra-som com fins endodônticos e a imersão passiva. Essa análise se repete conforme anteriormente colocado em relação ao terço cervical por ser o terço médio também de menor significância quando comparado ao apical. Esse resultado vem também comungar com o fato do fluxo acústico por meio do ultra-som não apresentar melhor condição de impregnação do agente traçador azul-de-metileno conforme considerado anteriormente.

Diferente é o enfoque quando consideramos o terço apical isoladamente, visto que, em relação à diferença entre as médias e a significância da interação entre os terços e as diferentes condições experimentais não decorreram diferenças estatisticamente significante nos resultados em nenhum dos grupos experimentais.

Nesse momento outra avaliação teve oportunidade. A comparação do nível de impregnação da solução corante de azul-de-metileno considerando os diferentes terços radiculares entre si.

Ao compararmos a diferença no impregnar do corante azul-de-metileno entre os terços cervical e médio resultou na não existência de significância nos resultados.

Porém, a despeito dessa não significância estatística, os resultados são absolutamente concordes com a literatura que indica ser o terço cervical mais permeável que o médio nos dentes humanos, haja vista que, mesmo não sendo significativo do ponto de vista estatístico o terço cervical ofereceu média de 26,68292, enquanto o médio sediou-se em 22,83334, ou seja, mesmo não sendo estatisticamente significante o terço cervical é mais sensível que o médio à impregnação de um agente traçador do tipo corante.

Quando a análise foi efetuada entre os terços cervical e o apical e entre os terços médio e apical os resultados comportaram-se de outra forma, apresentando diferença estatisticamente significante entre si.

Sendo assim, nossos resultados entram em concordância com a já tão conhecida e propalada diferença de permeabilidade entre os terços cervical, médio e apical de dentes humanos. Já em 1960, Marshall, Massler e Dute. mostraram ser a região apical praticamente impermeável aos isótopos radioativos, ao contrário do que ocorria nas regiões cervical e média da raiz.

Moura, Robazza e Paiva (1978) ao analisarem a permeabilidade da dentina radicular verificaram grande diferença de permeabilidade quando compararam as regiões cervical e média com a região apical. Nota-se, ademais, na região apical uma diminuição acentuada de permeabilidade ao se compararem os dois grupos.

Essa assertiva foi ademais evidenciada por Robazza, Paiva e Antoniazzi (1981) quando da análise global de seus resultados confirmando a região apical como a de menor permeabilidade.

Fróis et al. (1981) observaram também ser o terço apical o que apresentou o menor volume de penetração do corante azul-de-metileno.

Da mesma forma, nossos resultados são condizentes com o trabalho de Moura e Paiva (1989) que observaram não haver diferença estatisticamente significativa entre as regiões cervical e média para a penetração do corante azul-de-metileno, embora no terço médio tal porcentagem seja inferior. Observaram também que na região apical, a diminuição da penetração do corante foi muito significativa. Creditam a essas desigualdades o fato de que a penetração do corante para as três regiões radiculares reflete as reais condições morfológicas dessas áreas, de tal forma que, o terço apical por apresentar menor número e diâmetro dos túbulos dentinários comporta menor permeabilidade da dentina.

Alicerçado em tal fato, Grempel, Antoniazzi e Paiva (1990) são concordes em afirmar que sob a condição de dois agentes traçadores avaliados, o azul-de-metileno e a Rhodamine B, o terço de menor permeabilidade é o apical, seguido do médio e do cervical. Tal fato, também evidenciado neste experimento.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e nas condições deste experimento pôde-se concluir que:

1. Em relação às diferentes formas de impregnação, não existiu notoriedade para uma determinada condição no impregnar do corante azul-de-metileno quando se avalia a permeabilidade da dentina radicular humana tratada.
2. Quando comparadas as diferentes formas de impregnação do corante azul-de-metileno entre os diferentes terços houve diferença significativa no terço cervical, onde o vácuo calibrado para 30 mm Hg foi superior ao grupo do ultra-som Gnatus e ao grupo do vácuo calibrado para 25 mm Hg. Da mesma forma que no terço médio a imersão passiva mostrou-se superior, nos resultados, quando comparada ao ultra-som de fins endodônticos.
3. Ao analisarmos o comportamento dos métodos de impregnação do corante azul-de-metileno nos diferentes terços radiculares resultou na não existência de significância nos resultados entre o terço cervical e o médio, já entre o terço cervical e o apical e entre o terço médio e apical houve diferença estatisticamente significativa à impregnação de um agente traçador do tipo corante.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS¹

Ahlberg KMF, Assavanop P, Tay WM. A comparasion on the apical dye penetration patterns shown by methylene blue and India ink in root-filled teeth. *Int Endod J* 1995; 28(1): 30-4.

Al-Ghamdi A, Wennberg A. Testing of sealing ability of endodontic filling materials. *Endod Dent Traumatol* 1994; 10(6):249-55.

Antoniuzzi JH, Mjor IA, Nygaard-Ostby B. Assessment of the sealing properties of root filling materials. *Odontol Tidsk* 1968;76(3):261-71.

Antoniuzzi JH. Avaliação *in vitro* da eficiência do selamento marginal pela vibração aplicada na face ou no cone de guta-percha quando da obturação de canais radiculares [Tese de Livre-Docência] - São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1982.

Antonopoulos KG, Attin T, Hellwig E. Evaluation of the apical seal of root canal fillings with different methods. *J Endod* 1998;24(10):655-8.

Camps J, Pashley D. Realiability of the dye penetration studies. *J Endod* 2003;29(9):592-4.

Castillero MEM. ABC da Informática Odontológica. São Paulo: Livraria e Editora Santos;1999.

Chirnside IM. Bacterial invasion of non vital dentin. *J Dent Res* 1961;(40):134-40.

Cipelli SR, Bombana AC, Antoniuzzi JH. Avaliação *in vitro*, após preparo de espaço para retentor intra-radicular, da impermeabilização da dentina diante da aplicação de produtos diversos. *RPG* 1995;2(5):16-21.

Costa WF, Antoniuzzi JH. Ferrocianeto no tratamento endodôntico - 3 – Estudo *in vitro* da ação impermeabilizante e aspecto radiográfico do ferrocianeto de prata. *Anais do V Congresso Paulista de Odontologia*. São Paulo. Jan.1972.

¹De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

Dickson SS, Peters DD. Leakage evaluation with and without vacuum of two gutta-percha fill techniques. J Endod, 1993;19(8):398-403.

Dow PR, Ingle JI. Isotope determination of root canal failure. Oral Surg 1955;(8):1100-4.

Evans JT, Simon JHS. Evaluation of the apical seal produced by injected thermoplasticized gutta-percha in the absence of smear layer and root canal sealer. J Endod, 1986;(12):101-7.

Ferreira R. Infiltração apical da obturação de canais radiculares de secção transversal elíptica com diferentes técnicas de condensação [Dissertação de Mestrado]. Campinas: Universidade Camilo Castelo Branco; 2001.

Fish EW. The circulation of lymph in dentin and enamel. J Am Dent Assoc 1927;(14):804-17.

Ford TRP. The leakage of root fillings using glass ionomer cement and other materials. Br Dent J 1979;(146):273-8.

Fróis IM, Renberg AM, Robazza CRC, Costa WF, Antoniazzi JH. Permeabilidade da dentina radicular: um novo método de avaliação. Rev Paul Endod 1981;2(4):77-83.

Fróis IM. Influência do conteúdo do sistema endodôntico na permeabilidade da dentina radicular, pós-preparo do canal [Tese de Doutorado] São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1999.

Going RE. Marginal penetrations of dental restorations as studied by crystal Violet dye and I¹³¹. J Am Dent Assoc 1960;61(3):285-300.

Goldman M, Simmonds S, Rush R. The usefulness of dye-penetration studies reexamined. Oral Surg 1989;67(3):327-32.

Gondim E, Kim S, de Souza-Filho FJ. An investigation of microleakage from root-end fillings in ultrasonic retrograde cavities with or without finishing; a quantitative analysis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2005;99(6):755-60.

Grempel M, Antoniazzi JH, Paiva JG. Determinação da permeabilidade dentinária radicular natural de dentes humanos anteriores, segundo a faixa etária e o tipo de corante utilizado. *Rev Paul Odontol* 1990;12(1): 4-16.

Hamaoka L, Moura AAM. Avaliação *in vitro* da permeabilidade dentinária radicular tendo como fonte de variação três diferentes tipos de corantes. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1996;10(1):39-42.

Kuhre NA, Kessler JR. Effect of moisture on the apical seal of laterally condensation gutta-percha. *J Endod*;1993;19(6):277-80.

Lage-Marques JL. Avaliação *in vitro* do selamento marginal apical da obturação do sistema de canais radiculares em dentes portadores de secção transversal circular e elíptica, submetidos ou não a aplicação da condensação vertical e cone mestre ajustado no comprimento real de trabalho ou a 1mm aquém [Dissertação de Mestrado] São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1990.

Lauretti MB. Impermeabilização da dentina intra-radicular *in vitro* pelo emprego do cianocrilato de etila, verniz copal e adesivo dentinário após o preparo químico-cirúrgico de canais radiculares [Tese de Doutorado] São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1999.

Lemos EM, Caldeira CL, Aun CE, Gavini G, Skelton-Macedo MC. Método de captura e utilização da imagem digital direta (IDD) com finalidade didática em Odontologia. *RPG* 2002;9(3):199-206.

Luomanen M, Tuompo H. Study of titanium screws as retrograde fillings using bacteria and dye. *Scand J Dent Res* 1985;93(6):555-9.

Macedo MCS. Comparação de diferentes métodos de leitura aplicados a infiltração de corante em dentina humana [Tese de Doutorado] São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

Marshall FJ, Massler M, Dute HL. Effects of endodontic treatments on permeability of root dentine. *Oral Surg* 1960;13(2):208-23.

Masters J, Higa R, Torabinejad M. Effects of vacuuming on dye penetration patterns in root canals and glass tubes. *J Endod* 1995;21(6):332-4.

Matloff IR, Jensen JR, Singer L, Tabibi A. A comparison of methods used in root canal sealability studies Oral Surg 1982;53(2):203-8.

Miller WD. An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. Dental Cosmos 1894;36(7):505-28.

Moura AAM, Robazza CRC, Paiva JG. A relação entre a permeabilidade dentinária e o uso do Endo PTC no preparo do canal. Estudo "in vitro" e in vivo". Rev Assoc Paul Cir Dent 1978;32(1):37-46.

Moura AAM, Paiva JG. Análise in vitro da permeabilidade dentinária radicular quando do emprego de instrumentos endodônticos, tendo como fonte de variação o instrumento e o numero de usos: contribuição para estudo. Rev Odontol USP 1989;3(1):262-70.

Oliver CM, Abbott PV. Entrapped air and its effects on dye penetration of voids. Endod Dent Traumatol 1991;(7):135-8.

Oliver CM, Abbott PV. An in vitro study of apical and coronal microleakage of laterally condensed gutta percha with Ketac-Endo and AH-26. Aust Dent J 1998;43(4):262-8.

Oppenheimer S, Rosenberg PA. Effect of temperature change on the sealing properties of Cavit and Cavit G. Oral Surg 1979;48(3):250-3.

Paiva JG, Antoniazzi JH. O uso de uma associação de peróxido de uréia e detergente (Tween 80) no reparo químico-mecânico dos canais radiculares. Rev Ass Paul Cir Dent 1973;27(7):416-22.

Paiva JG, Antoniazzi JH. Endodontia: bases para a prática clínica. 2^a ed. São Paulo:Artes Médicas;1991. 886p.

Palamara JEA, Wilson PR, Thomas CDL, Messer HH. A new imaging technique for measuring the surface strains applied to dentine. J Dent 2000;28(2):141-6.

Pathomvanich S, Edmunds DH. Variation in the microleakage produced by four different techniques in root fillings in a simulated root canal model. Int Endod J 1996;29(3):156-62.

Ricci ER, Kessler JR. Apical seal of teeth obturated by the laterally condensed gutta-percha, the thermafil plastic and thermafil metal obturator techniques after post space preparation. *J Endod* 1994;20(3):123-6.

Robazza CRC, Paiva JG, Antoniazzi JH. Variações na permeabilidade da dentina radicular quando do emprego de alguns fármacos auxiliares do preparo endodôntico. Contribuição para o estudo. *Rev Ass Paul Cir Dent* 1981;35(6):528-33.

Roux D, Domejean-Orliaguet S, Saade M. Leakage associated with intermediate restorative materials and glass-ionomer cement retrograde fillings: a human and sheep teeth comparison with 2 different aging procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;93(1):81-7.

Russin TP, Zardiackas LD, Reader A, Mencke RA. Apical seals obtained with laterally condensed, chloroform-softened gutta-percha, and laterally condensed gutta-percha and Grossman's sealer. *J Endod* 1980;(6):678-82.

Santamarina JC, Klein KA, Wang YH, Prencke E. Specific surface: determination and relevance *Can Geotech* 2002;(39):233-41.

Schnell F. Effect of immediate dowel space preparation on the apical seal of endodontically filled teeth. *Oral Surg* 1978;(45):470-4.

Scott AC, Vire DE, Swanson R. An evaluation of the Thermafil endodontic obturation technique. *J Endod* 1992;18(7):340-3.

Seltzer S, Bender IB. A polpa dental. Rio de Janeiro:Ed. Labor do Brasil, 1979. 449 p.

Shovelton DS. The presence and distribution of microorganisms within non-vital teeth. *Bri Dent J* 1964;117(3):101-7.

Spanberg LSW, Acierno TG, Cha BY. Influence of entrapped air on the accuracy of leakage studies using dye penetration methods. *J Endod* 1989;15(11):548-51.

Spradling PM, Senia S. The relative sealing ability of paste-type filling materials. *J Endod* 1982;(8):543-9.

Starkey DL, Anderson RW, Pashley DH. An evaluation of the effect methylene blue dye pH on apical leakage. *J Endod* 1993;19(9):435-9.

Tewari S, Tewari S. Assessment of coronal microleakage in intermediately restored endodontic access cavities. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;93(6):716-9.

Veis A, Lambrianides T, Nicolaou A. Area-metric analysis of the leakage for evaluation of sealing ability of root canal obturation techniques. *Endod Dent Traumatol* 1996;12(5):222-6.

Zmener O, Pameijer CH, Macri E. Evaluation of the apical seal in root canals prepared with a new rotary system and obturated with a methacrylate based endodontic sealer: an in vitro study. *J Endod* 2005;31(5):392-5.

Wimonchit S, Timpawat S, Vongsavan N. A comparison of techniques for assessment of coronal dye leakage. *J Endod* 2002;28(1):1-4.

Wu MK, Wesselink PR. Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. Methodology application and relevance. *Int Endod J* 1993; 26(37):37-43.

Youngson CC, Glin Jones JC, Manogue M, Smith IS. In vitro dentinal penetration by tracers using in microleakage studies. *Int Endod J* 1998;31(2):90-9.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Teste de aderência à curva de distribuição amostral normal relativo às medidas das áreas totais de infiltração das duas hemipartes considerando as diferentes formas de impregnação pelo corante azul-de-metileno nos 6 grupos experimentais

Teste de Aderência à curva normal: valores originais							
A - freqüências por intervalos de classe							
Intervalos de classe:	M-3s	M-2s	M-1s	Med.	M+1s	M+2s	M+3s
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,83	5,83	28,33	36,67	22,50	5,00	0,83
B - Cálculo do χ^2							
Graus de Liberdade: 4				Interpretação			
Valor do χ^2 : 1,15				A distribuição amostral testada			
Probabilidade de H_0 : 88,62%				é normal			

APÊNDICE B - Teste de aderência à curva de distribuição amostral normal relativo aos valores em mm^2 correspondentes às leituras de cada uma das hemipartes considerados os terços cervical, médio e apical

Teste de aderência à curva normal							
A. Freqüências por intervalos de classe:							
Intervalos de classe:	M-3s	M-2s	M-1s	Med.	M+1s	M+2s	M+3s
Curva normal:	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental:	1,67	5,00	21,94	40,00	26,11	4,44	0,83
B. Cálculo do χ^2 :							
Graus de liberdade: 4				Interpretação			
Valor do χ^2 : 0,62				A distribuição amostral testada			
				é normal			

ANEXO

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Faculdade de Odontologia
Universidade de São Paulo

PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 11/05

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa "*Análise in vitro da permeabilidade radicular humana variando a metodologia de aplicação do corante azul-de-metileno, utilizando como método de leitura o Software Leica Qwin*", de responsabilidade da Pesquisadora **Ronise Ferreira Dotto**, sob orientação do Professor Doutor **Antônio Carlos Bombana**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 08 de março de 2005

Prof. Dr. **Rogério Nogueira de Oliveira**
Coordenador do CEP-FOUSP