

ANDREZA GAROFALO IZAIAS

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA *IN VITRO* DA CAPACIDADE
SELADORA DA REGIÃO DE FURCA DE MOLARES HUMANOS
POR DIFERENTES MATERIAIS, ASSOCIADOS OU NÃO, À
APLICAÇÃO DE LASER**

São Paulo

2008

Andreza Garofalo Izaias

Avaliação microbiológica *in vitro* da capacidade seladora da região de furca de molares humanos por diferentes materiais, associados ou não, à aplicação de laser

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

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Bombana

São Paulo

2008

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

Izaias, Andreza Garofalo

Avaliação microbiológica *in vitro* da capacidade seladora da região de furca de molares humanos por diferentes materiais, associados ou não, à aplicação de laser / Andreza Garofalo Izaias; orientador Antonio Carlos Bombana. -- São Paulo, 2008.

91p.: tab., fig.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Endodontia) -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Molares – Região de furca – Resinas compostas –
Impermeabilização 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 COMUNICADA AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Izaias AG. Avaliação microbiológica *in vitro* da capacidade seladora da região de furca de molares humanos por diferentes materiais, associados ou não, à aplicação de laser [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

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: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Nadim e Bete, com amor, admiração e gratidão pela compreensão, carinho, presença e incansável apoio ao longo da trajetória percorrida para chegar nessa fase da minha vida profissional.

AGRADECIMENTOS

À Deus,

pela oportunidade que me deu em poder contribuir um pouco na ajuda ao próximo. Por ter colocado pessoas maravilhosas em meu caminho. Por ter me reservado uma vida cheia de conquistas.

Ao Prof. Dr. Mário Roberto Leonardo,

pelo incentivo e dedicação durante o curso de Especialização, pois sem sua ajuda não estaria aqui, obtendo meu título de Mestre. Espero podermos contar sempre com sua incansável busca para melhorar e aprimorar a Endodontia.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Bombana,

por ter me acolhido como orientanda, por estar sempre com palavras e gestos otimistas, fazendo com que os obstáculos sejam superados. Sempre com uma solução, uma invenção. O senhor é o nosso “Professor Pardal”, nossa Luz. Que Deus continue iluminando essa mente brilhante que ajuda no avanço das pesquisas endodônticas.

À Profa. Dra. Patrícia Helena Pereira Ferrari

pela ajuda, dedicação. Obrigada por ter pego na minha mão e me ensinado tudo. Tudo que sei hoje sobre Microbiologia, laboratório, meios de cultura, devo a você. Se não fosse sua dedicação, empenho este trabalho não teria acontecido. Admiro você por ser essa Professora, Pesquisadora, Endodontista e Mãe excepcional!!! Sempre 100% em tudo o que faz.

À Profa. Dra. Silvana Cai,

por ter cedido seu Laboratório de Microbiologia Oral do ICB II – USP para a realização desta pesquisa.

A todos professores da Disciplina de Endodontia da FOUSP, especialmente, aos professores Giulio Gavini e Celso Luiz Caldeira,

pela compreensão nas horas em que não pude estar ativa nas atividades da graduação por conta desta pesquisa. Vocês são exemplos a seguir como professores. Meu eterno respeito pelo trabalho e competência de vocês.

Aos meus pais, Nadim e Bete,

que sempre deixaram de fazer para eles para fazer por mim e pelo Gu. Se não fosse o incentivo e dedicação integral de vocês, não teria como poder continuar a estudar depois da graduação. Graças à educação que me deram tive condições de me tornar a pessoa que sou hoje. Sempre ao meu lado, mesmo que longe, sei que posso contar com vocês, sei que “se não der certo aqui posso correr para aí”. Essa minha conquista também é de vocês.

Ao meu irmão Gustavo,

sempre alegrando nas horas difíceis, eterno companheiro. Você é um clínico em Odontologia e eu com um viés , mais acadêmico. Admiro sua coragem, dedicação e amor no conduzir de sua profissão. Admiro sua postura e o reconhecimento de seus pacientes.

À minha cunhada Regiane,

entrou na família, me deu um sobrinho maravilhoso e está sempre do lado do meu irmão. Admiro sua coragem e determinação, pois sei que não é fácil deixar a casa dos pais para começar uma vida distante daqueles que amamos.

Ao meu sobrinho e afilhado Matheus,

hoje você não entende o que tudo isso significa para mim, mas com certeza daqui alguns anos entenderá e quem sabe não se tornará um de nós. Espero que entenda minha ausência. Você ainda não tem noção de quanta alegria me traz, o tanto que é importante chegar em Ribeirão Preto e ver você cada vez maior, mais tagarela, mais arteiro. Muitas vezes você me fez sorrir quando a vontade era de sumir.

Aos meus avós maternos, Vó Maria e Vó Nelson,

sei que, onde quer que se encontrem estarão sempre olhando por nós. Obrigada pelo apoio e força que sempre nos deram. Tenho certeza que continuamente estarão sempre conosco.

Aos meus avós paternos, Vovó Lucia (Mioko) e Vovô Pedro (Toshio),

pelo amor e carinho, pelo abraço e aconchego que sinto toda vez que os encontro.

Aos meus primos Carol e Rafa,

pela alegria e amor que me dão. Pelo carinho e pelas horas de diversão. Vocês são meus primos-irmãos que me trazem muitas coisas boas nos momentos que passamos juntos.

Ao meu companheiro Fabrício,

pela paciência, compreensão, carinho, amor e incentivo. Não fosse você não sei o que seria hoje. Obrigada pela dedicação, pelo simples abraço na hora em que tudo parecia perdido e a vontade era de desistir, pelas noites comigo no Laboratório, pelo tempo que não aproveitamos porque eu tinha que trabalhar no desenvolver de um experimento.

Você é a força que tenho quando tudo parece perdido, um simples abraço já é tudo para dizer como é grande todo esse sentimento. Você faz parte dessa conquista.

Aos meus sogros Franca e Douglas,

por terem me adotado como minha família aqui em São Paulo. Vocês, contribuíram muito para que eu tivesse ânimo para continuar.

Às amigas de apartamento, Samira, Marília, Renatinha, Jackie e Lê,

pela força e ombro amigo. Obrigada por me agüentarem nos dias em que nada dava certo (e neste meu trajeto muitas coisas não deram certo). É sempre muito bom poder chegar em casa e saber que tem pessoas como vocês para rir em conjunto e contar historias diferentes. Desculpem pelos dias em que vocês tinham mil motivos para comemorar e, eu, chegava com um motivo para chorar e mesmo assim vocês deixavam a comemoração e vinham com palavras de incentivo. Tenho certeza que hoje vocês também estão comemorando essa minha conquista. Saibam que estarei sempre aqui também! Contem comigo!

Às amigas de Ribeirão Preto, Mari, Marina, Isa, Re, Reneide, Marcela,

PTs pela alegria, palavras de incentivo Desculpem, mas agora virei paulistana e realmente tenho que assumir essa postura.

Aos companheiros de Pós-Graduação: Césinha, Carlínha Gury, Gabriella, Guilherme, Eliana, Isabelle, Karla, Luciano, Leo, Cabreles, Eli, Andreinha, Lili e Dani,

vocês se tornaram mais que colegas de Pós-Graduação, considero-os amigos. Obrigada pelo apoio e ajuda de todos.

À Profa. Dra. Soraia de Fátima Carvalho Souza,

sempre com palavras de incentivo, compreendendo as horas mais difíceis que passei com as tentativas frustradas deste experimento. Obrigada também pela comemoração na hora em que tudo deu certo. Pelo carinho e amizade que construímos. Sou sua fã!

Aos meus “chefes” Arnaldo e Andressa, Akemí e Alex,

pela compreensão nos dias que não marcava pacientes porque tinha que ir para a Faculdade cuidar do experimento e por terem deixado muitas vezes que eu preparasse minhas amostras na clínica em que atuamos. Obrigada pelo incentivo para continuar estudando e não parar. como também, pelo apoio para poder conciliar Mestrado e Consultório.

Às auxiliares e secretárias Alice, Michele, Mari, Edna e Cris,

pela compreensão e apoio. Pela ajuda e preocupação para saber se tudo estava correndo bem. Vocês são pessoas indispensáveis no bom andamento dos consultórios e atendimento aos pacientes.

À secretária do Departamento de Dentística, Ana Maria,

pela força e ombro amigo que muitas vezes precisei nas horas difíceis e pela alegria compartilhada nas conquistas que obtive.

À Sônia, técnica do Laboratório do Departamento de Dentística da FOU SP,

pela ajuda para que essa pesquisa fosse realizada. Sempre atenciosa e pronta pra ajudar.

Aos funcionários do Departamento de Dentística da FOU SP, Leandro, Luizinho, Davi e Cleber,

pela atenção dispensada nas horas em que precisei.

À Dra. Julia Maria de Souza Felipe, Mônica Cândida Georgete Scala e Lía Teixeira Bastos da Seção de Coleção de Culturas do Instituto Adolfo Lutz,

pela doação de cepas ATCC 29212 de *Enterococcus faecalis*.

Ao Laboratório Especial de Laser em Odontologia da FOU SP (LELO-FOU SP),

pela disponibilidade na aplicação do laser Nd:YAG.

Ao pessoal do IPEN, Beth e Carlos, Yasko e Paulo,

pela irradiação das amostras.

À CAPES,

pelo auxílio da bolsa de mestrado.

Cada novo amigo que ganhamos no decorrer de nossa vida nos aperfeiçoa e nos enriquece, não tanto pelo que nos dá quanto pelo que nos revela de nós mesmo.
(Miguel Unamuno)

“A vida é como andar de bicicleta. Para manter o equilíbrio, é preciso se manter em movimento.”
(Albert Einstein)

"Nossa maior fraqueza é a desistência. O caminho mais certo para o sucesso é sempre tentar apenas uma vez mais."
(Thomas A. Edison)

Izaias AG. Avaliação microbiológica *in vitro* da capacidade seladora da região de furca de molares humanos por diferentes materiais, associados ou não, à aplicação de laser [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar a capacidade seladora de diferentes materiais, associados ou não à irradiação laser, na região de furca de molares humanos, utilizando como microrganismo traçador o *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Para tal, quarenta e oito molares inferiores humanos extraídos foram utilizados. As raízes foram seccionadas 4 mm abaixo da região da furca e a luz dos canais vedadas apicalmente com resina composta fotopolimerizável. A seguir, a cirurgia de acesso foi realizada e a câmara coronária preparada quimicamente com solução de hipoclorito de sódio a 1% reagindo com creme de Endo-PTC[®] durante 45 minutos. A irrigação final foi realizada com 5 mL de solução de EDTA-T 17%, durante 3 minutos, seguindo-se lavagem com 10 mL de solução de hipoclorito de sódio 1%. Após o preparo químico, os dentes foram divididos aleatoriamente em 5 grupos experimentais, de acordo com o agente impermeabilizante da furca: GI – AH-Plus[®]; GII – cianoacrilato de etila; GIII – aplicação do laser Nd:YAG; GI associado – aplicação do laser Nd:YAG + AH-Plus e GII associado – aplicação do laser Nd:YAG + cianoacrilato de etila. Grupos controles positivo e negativo da esterilidade, da viabilidade bacteriana, foram desenvolvidos. Os dentes foram individualmente montados em seringas plásticas de 5 mL preparadas previamente e este aparato foi

acoplado a uma câmara inferior, que continha meio de cultura TSB, sendo vedado com silicone. Esse conjunto foi esterilizado com radiação ionizante Co^{60} e os espécimes receberam 500 μL do inóculo ajustado na escala Mc Farland 3 na câmara superior. A cada dois dias o meio de cultura foi renovado, estabelecendo-se um período de observação de 30 dias. Os resultados indicaram que a permeabilidade dentinária foi melhor controlada pela aplicação de cianoacrilato de etila na região da furca, não tendo o uso da irradiação laser contribuído para melhora do nível de impermeabilização da dentina.

Palavras-Chave: permeabilidade dentinária – impermeabilização da dentina – região de furca – laser

Izaias AG. An *in vitro* microbiologic evaluation of the sealer capacity in the furcal region of molars by different materials, associated or not, to the laser application. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

ABSTRACT

The sealer capacity of different materials, associated or not to the irradiation laser, in the furcal region of human molars, utilizing *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 whit micro-organism to inoculate this region, was the objective of the present research. For such forty-eight mandible human molars extracted were utilized. These roots were cut 4mm down the region of the furcal and the light of the canal roots sealed with resin composed. The surgery of access was carried out and the coronary camara prepared chemically with 1,0 % sodium hypochlorite reacting with Endo-PTC[®] cream during 45 minutes. The final irrigation by 17 % EDTA-T was performed, during 3 minutes, following the washing with 10 mL 1,0 % sodium hypochlorite. After the chemical preparation the teeth were divided randomly in 5 experimental groups, according to the material that turn the furcal region impermeability: GI – AH-Plus[®]; GII – cianoacrilato of etila; GIII – Nd: YAG irradiation; GI associated – Nd: YAG irradiation + AH-Plus[®] and GII associated – Nd: YAG irradiation + cianoacrilato of etila. Groups controls of the sterility, positive and negative, were evaluated. The teeth individually were putted into the plastic syringes of 5 mL prepared previously, sterilized with Co⁶⁰ radiation, and this apparatus was coupled to the lower chamber, that count TSB bacterial culture, being sealed with silica of addition, Araldite[®] and Super Bonder[®]. The specimens were inoculated whit 500 µL of the *Enterococcus faecalis* adjusted in the Mc Farland 3 scale in the upper chamber. To each two days

the environment of culture were renewed. The specimens of all of the groups presented microleakage in 11 days of observation. The results showed that the group whit cianoacrilato of etila gave better impermeability furcal region, followed by the AH Plus[®], association of the laser Nd: YAG irradiation + cianoacrilato of etila, laser Nd: YAG irradiation and, finally, association of the laser Nd: YAG + AH Plus[®].

Keywords: dentin permeability – dentin impermeabilization – furcal area – laser

LISTA DE FIGURAS

- Figura 4.1 - Secção das raízes dos molares inferiores a 4mm abaixo da região de furca e selamento da porção apical com resina fotopolimerizável.....53
- Figura 4.2 - Impermeabilização da furca dos molares inferiores com cimento endodôntico AH-Plus.....55
- Figura 4.3 - Raízes impermeabilizadas externamente com esmalte de unha, excetuando-se a região de furca.....56
- Figura 4.4 - Montagem individualizada dos espécimes.....56
- Figura 4.5 - Aparato para o teste de infiltração bacteriana.....57
- Figura 5.1 – Controle positivo: turvação do meio de cultura.....63
- Figura 5.2 – Controle negativo: ausência de turvação do meio de cultura.....63
- Figura 5.3 – Representativo do percentual de espécimes que apresentaram infiltração nos diferentes grupos experimentais, nos diferentes tempos de avaliação.....66

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 4.1 - Distribuição dos grupos controle.....61

Tabela 5.1 - Avaliação da microinfiltração de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) nos diferentes grupos experimentais, no período de avaliação.....65

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

NDP	Fosfato de Dexametasona, Paramonoclorofenol, Polietilenoglicol e Rinossoro (Medicação intra-canal)
Er	Érbio
YAG	<i>Yttrium aluminium garnet</i>
MTAD	Isômero de tetraciclina (<i>doxycycline</i>), ácido cítrico e detergente (<i>Tween 80</i>)
Tc	Tecnécio
PEG	Polietilenoglicol
UE	Unidade de endotoxina
TiF ₄	Fluoreto de Titânio
He-Ne	Hélio-Neônio
CO ₂	Dióxido de carbono
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CTR	Centro de Tecnologia das Radiações
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EDTA-T	ácido etilenodiaminotetraacético – tergentol
Hz	Hertz
IPEN	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
LELO	Laboratório Especial de Laser em Odontologia
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
MEV	microscopia eletrônica de varredura
Nd	Neodímio

TSA

Tryptic Soy Agar

TSB

Tryptic Soy Broth

LISTA DE SÍMBOLOS

μm	micrômetro
mm	milímetro
W	Watts
h	hora
$^{\circ}\text{C}$	grau Célsio
s	Segundo
mJ	mili Joule
KGy	quilo gray
mL	mililitros
Co^{60}	cobalto de peso molecular 60
μL	microlitros
ufc	unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1 Permeabilidade dentinária.....	24
2.2. Ação das substâncias químicas na permeabilidade dentinária.....	26
2.3 A infecção endodôntica.....	28
2.4 Agentes químicos e físicos empregados como seladores da dentina.....	34
3 PROPOSIÇÃO	49
4 MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1 Seleção dos espécimes.....	52
4.2 Preparo dos espécimes	53
4.3 Grupos experimentais.....	54
4.4 Teste de Infiltração Microbiológica	58
4.5 Grupos controle.	59
5 RESULTADOS	62
6 DISCUSSÃO	67
7 CONCLUSÕES	77
REFERÊNCIAS	79
ANEXOS	88

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Pela sua própria natureza, a dentina apresenta ao longo de sua estrutura túbulos, que contêm em seu interior os prolongamentos odontoblásticos e respectivo líquido intersticial, conferindo assim, a esse tecido característica peculiar a qual Mjör (1972) denominou de permeabilidade dentinária.

Muitos são os trabalhos que, empregando MEV, estudaram o número e a amplitude dos túbulos dentinários em dentes humanos constatando a presença de aproximadamente 45.000 túbulos por milímetro quadrado, com diâmetro em torno de 2,5 μm , nas proximidades da polpa. Esse número cai para 29.500 túbulos por milímetro quadrado e 1,2 μm de diâmetro, à meia distância da espessura da dentina, e para 20.000 e 0,9 μm nas vizinhanças da junção amelodentinária.

Quando a malha dentinária é exposta por lesão de cárie, fratura dental, abrasão ou erosão, a comunicação direta entre o meio bucal e o tecido pulpar fica estabelecida, podendo gerar alterações pulpares e, conseqüentemente, periapicais.

Diante da necrose do tecido pulpar, microrganismos podem alojar-se não apenas no canal principal, mas em todo sistema endodôntico, o que inclui canais laterais e secundários e a própria intimidade da massa dentinária. Assim, durante a terapia endodôntica de dentes portadores de infecção, é imperioso o emprego de substâncias químicas capazes de efetivamente colaborarem no saneamento e desinfecção do sistema de canais radiculares. Para tal, substâncias como soluções de hipoclorito de sódio, nas suas diversas concentrações, peróxidos como aquele presente no creme Endo-PTC[®], agentes quelantes como a solução de EDTA, ou soluções descalcificantes como as de ácido cítrico, entre outras, são recomendadas para o uso endodôntico. Para mais, complementam as manobras de desinfecção do

endodonto tipos diversos de medicações intracanal dotadas de propriedades antimicrobianas.

A descontaminação do sistema endodôntico constitui manobra terapêutica fundamental ao processo reparacional dos tecidos periapicais. Em vista disso, desde que a questão foi compreendida, muitos esforços foram despendidos na busca pela ampliação da permeabilidade dentinária.

Assim, em um primeiro momento do tratamento de dentes portadores de polpa mortificada atua-se intensamente objetivando ampliar a permeabilidade dentinária e em um segundo tempo procura-se reverter essa condição por meio da obturação do sistema endodôntico e restauração final da coroa dental. Tanto a obturação endodôntica, quanto a restauração final da coroa dental têm por objetivo impermeabilizar o mais possível o meio interno do dente em relação ao seu meio exterior, seja considerada a via apical ou a coronária, tendo em vista dificultar a troca de substâncias ou agentes irritantes aos tecidos perirradiculares.

Enquanto os materiais obturadores buscam impermeabilizar a dentina radicular pela associação de cones de guta-percha e cimento obturador, as regiões de bi ou trifurcação são bastante desconsideradas nessa fase de finalização do tratamento endodôntico.

Gutmann (1978), com o propósito de determinar a prevalência e a localização dos canais acessórios na região da furca, pesquisou 51 molares com estruturas intactas. O autor encontrou 15,5 % dos molares inferiores com canais acessórios na furca e 23,5 % desses canais nos molares superiores. Esses números tornam-se mais expressivos após a ação das substâncias químicas empregadas durante o preparo dos canais, pois essas atuam removendo matéria orgânica e inorgânica da massa dentinária. Sob esse prisma, importa considerar que as regiões de bi ou

trifurcações são as que sofrem ação mais prolongada das substâncias químicas auxiliares durante a fase de preparo dos canais.

Dessa forma, é plenamente justificável que mais estudos tenham oportunidade visando encontrar formas de impermeabilização do assoalho das câmaras pulpares após a conclusão do tratamento endodôntico, mormente em situações em que, em função de grande destruição coronária, torna-se necessária a inserção de pinos, retentores intra-radiculares ou outras formas de preenchimento que permitam a correta reconstrução coronária.

REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Permeabilidade Dentinária

A dentina, tecido mineralizado do complexo dentino pulpar, compõe-se quimicamente em aproximadamente 70 % de material inorgânico, 20 % material orgânico, e 10 % de água. Caracteriza-se microscopicamente pela presença de numerosos túbulos, que estendem-se do compartimento pulpar ao esmalte na porção coronária, ou ao cemento na porção radicular. Sua configuração anatômica sugere imaginá-la como um tecido altamente permeável, o que nos é comprovado com imagens microscópicas mostradas em inúmeros estudos (PASHLEY; LIVINGSTON, 1978).

A permeabilidade dentinária depende da quantidade de túbulos dentinários, dimensão e diâmetro funcional desses túbulos, espessura da dentina, presença de *smear layer*, entre outros fatores. Estudos *in vitro* revelam que a permeabilidade dentinária aumenta, quanto mais se aproxima da polpa, pois há uma maior quantidade de túbulos dentinários, além destes apresentarem, também, maior diâmetro. (KOUTSI et al., 1994; MAROLI, KHERA, KRELL, 1992).

Garberoglio e Brännström (1976), estudando o número e a amplitude dos túbulos dentinários em dentes humanos, sob MEV constataram a presença de aproximadamente 45.000 túbulos por milímetro quadrado, com diâmetro em torno de 2,5 μm , nas proximidades da polpa. Esse número cai para 29.500 túbulos por

milímetro quadrado e 1,2 μm de diâmetro, à meia distância da espessura da dentina, e para 20.000 e 0,9 μm nas vizinhanças da junção amelodentinária.

Koenigs, Brilliant e Foreman (1974) também por meio de MEV, constataram a existência de grande quantidade do que denominaram foraminas no assoalho de câmaras pulpares de molares humanos.

Vertucci e Willians (1974) investigando com auxílio de corante traçador e descalcificação dos espécimes observaram em 100 molares permanentes inferiores humanos 46% de incidência de canais acessórios na região de furca.

Gutmann (1978), com o propósito de determinar a prevalência e a localização dos canais acessórios na região da furca, pesquisou 51 molares com estruturas intactas. O autor encontrou 15,5 % de molares inferiores com canais acessórios na furca e 23,5 % desses canais nos molares superiores.

Examinando 62 molares humanos sob microscopia ótica, Perlich, Reader e Foreman (1981) puderam observar a presença de forames acessórios em 64% das amostras estudadas representados por 22 molares superiores e 18 inferiores.

Prada et al. (1994) avaliaram, valendo-se de MEV, a presença de forames acessórios na superfície de furca nos níveis dentinário e cementário. Em nível do cimento a incidência de forames acessórios foi da ordem de 87,77%, enquanto na dentina do assoalho da câmara pulpar constaram ser de 66,66%, a presença dessas foraminas.

2.2 Ação das Substâncias Químicas na Permeabilidade Dentinária

Com o conhecimento da anatomia interna dental e da histologia da dentina observou-se ser esta, um tecido permeável, portanto possível de contaminação em toda sua extensão, principalmente diante de problemas infecciosos pulpares. A par disto, vários autores desenvolveram associações químicas capazes de aumentar essa permeabilidade de modo que a medicação intracanal utilizada posteriormente, tivesse melhor atuação nos eventuais microorganismos situados no âmago da dentina.

Raldi (2003) avaliou *in vitro* os efeitos da interação de soluções irrigantes (EDTA-T e ácido cítrico), de medicação intracanal (NDP) e de irradiação laser Er:YAG, na permeabilidade dentinária. Foram utilizados 51 dentes unirradiculares extraídos que, após o preparo químico cirúrgico, foram divididos em 7 grupos experimentais: grupos I e II - irrigação final com substâncias irrigante quelante ou desmineralizadora (EDTA-T e ácido cítrico, respectivamente); grupos III e IV - irrigação final com substância irrigante quelante ou desmineralizadora (EDTA-T e ácido cítrico, respectivamente) associando substância irrigante e irradiação laser Er:YAG; grupos V e VI - irrigação final com substância irrigante quelante ou desmineralizadora (EDTA-T e ácido cítrico, respectivamente) associando aquela medicação intracanal e irradiação laser Er:YAG e grupo VII (controle) - irrigação final com água destilada. Os canais radiculares foram preenchidos com corante Rhodamine B solubilizado na medicação de uso intracanal NDP. A análise dos resultados permitiu concluir que os melhores resultados foram obtidos quando da interação substância irrigante associada à medicação intracanal e laser Er:YAG

(grupos V e VI). Nesses grupos constatou-se que a diferença de penetração da mistura corante-medicação intracanal no terço apical foi, em média, 29% maior do que nos demais grupos

Ferreira (2005) avaliou a permeabilidade dentinária dos canais radiculares utilizando gel e creme Endo PTC como substâncias químicas auxiliares. A autora selecionou doze raízes de dentes unirradiculares, as preparou endodonticamente dividindo-as em 3 grupos de acordo com a substância química auxiliar: Grupo 1 - creme Endo PTC, Grupo 2 - gel Endo PTC e Grupo 3 - soro fisiológico. Logo após os espécimes foram submetidos à ação do corante indicador Rhodamine B a 1 % e clivados no sentido longitudinal para avaliação da penetração do corante em toda a extensão radicular. Foi possível concluir que a proposta experimental que empregou o gel como veículo foi capaz de proporcionar índice de permeabilidade semelhante ao do protocolo tradicionalmente empregado, não apresentando, na análise comparativa creme/gel (Grupo 1 X Grupo 2), diferenças estatisticamente significantes, indicando-o, sob a luz da proposta experimental, como uma boa opção terapêutica.

Araki (2007) avaliou as variações da permeabilidade dentinária do sistema endodôntico utilizando como irrigação intracanal: ácido cítrico a 15%, EDTA-T a 17%, MTAD, Smear Clear e NaCl 0,9% e a influência de diferentes lasers: Diodo, Er:YAG, Nd:YAG, utilizando para isso o radioisótopo Tecnécio-99m (99m Tc) e o polietilenoglicol 400 (PEG 400) marcado com 99m Tc. Foram selecionadas 150 raízes palatinas de molares superiores, divididas em 5 grupos. Inicialmente foram analisadas 10 raízes de cada grupo, introduzindo-se 5mL de 99m Tc no canal radicular, sendo então as raízes imersas em NaCl 0,9%, com exceção da superfície da entrada do canal para realizar a contagem da quantidade de radioisótopo

dissociado para a solução salina que constituía o meio externo, sendo que os mesmos procedimentos foram realizados com a introdução de PEG - 400 marcado no canal radicular. Posteriormente, cada um dos grupos experimentais foram subdivididos em outros 3 para irradiação com os diferentes lasers: Diodo (1,5 W, modo contínuo); Er:YAG [100 mJ (42 mJ output), 1W, 10 Hz]; Nd:YAG (100 mJ, 1,5 Hz, 15W). Repetiu os mesmos procedimentos primeiramente com 99m Tc livre e posteriormente com PEG - 400 marcado com 99m Tc para a contagem do radioisótopo dissociado na solução salina. Pôde concluir que a irradiação com laser Nd:YAG + irrigação com ácido cítrico, ou com EDTA-T apresentaram os melhores índices de permeabilidade.

2.3 A infecção endodôntica

Sabe-se que o órgão dental apresenta revestimentos biológicos naturais e calcificados, tanto em nível coronário (esmalte) quanto radicular (cimento). A presença dessas estruturas protege as demais como a dentina e a própria polpa. No entanto, a colonização das superfícies do esmalte ou do cimento por microrganismos acidogênicos pode promover desmineralização expondo, em princípio, a estrutura tubular da dentina e em continuidade a própria polpa, até então não contaminada por microrganismos (HAAPASALO, ØRSTAVIK, 1987).

Frente à agressão de natureza biológica, a primeira linha de defesa constituiu-se na esclerose dos túbulos dentinários. Caso o agressor não seja removido, a

destruição tecidual se agrava e dentina reacional é depositada na câmara pulpar, em direção ao invasor, na tentativa de impedir o avanço de microrganismos e seus subprodutos. Em não havendo a instituição de medida terapêutica, os agressores avançam dentina a dentro e reação inflamatória pulpar estabelece-se caracterizando a mais ampla defesa do órgão dental. Enquanto a polpa mantiver-se vital, mesmo que inflamada, não há o estabelecimento de infecção na cavidade endodôntica (MILLER, 1894). No entanto, a evolução do processo carioso leva à falência do tecido conjuntivo pulpar. Por ocasião disso, os microrganismos ganham oportunidade em invadir a cavidade endodôntica, sem encontrar resistência tecidual ou imunológica (SHOVELTON, 1964). Vale ressaltar, que a perda de vitalidade do tecido pulpar pode ocorrer não só diante da lesão de cárie, mas também em função da doença periodontal, trauma dental ou via anacorética (KANTZ, HENRY, 1974).

O primeiro trabalho a observar microrganismos nos canais radiculares foi o de Miller, em 1894, no qual realizando estudo bacteriológico em 50 dentes com necrose pulpar, observou diferentes microrganismos (cocos, bacilos e espiroquetas) no espaço anteriormente ocupado pela polpa.

Shovelton (1964) estudou a presença e distribuição de microrganismos em dentes não vitais e verificou que 79 dos 97 dentes, diagnosticados clinicamente como polpa necrosada, mostravam contaminação no interior dos canais radiculares. O autor verificou que a maior contaminação sediava-se na luz do canal principal e junto à pré-dentina. Através de estudos histológicos e da história clínica do paciente concluiu que a invasão bacteriana, em nível de túbulos dentinários, era tanto mais intensa quanto mais crônico o processo.

Nesse mesmo ano, Engström (1964) investigou a frequência de enterococos em dentes portadores de polpa não vital e observou uma estreita correlação entre a

detecção de enterococos no interior do canal radicular e a sua ocorrência na cavidade bucal. Enterococos puderam ser isolados em 14,9% dos casos. Após tratamento endodôntico, pôde observar insucesso em 65% dos casos inicialmente contaminados. Testes de sensibilidade antibiótica foram realizados e os enterococos foram resistentes à penicilina, sulfonamida, polimixina e kanamicina, porém sensíveis à eritromicina e ao cloranfenicol. Concluiu que infecções por enterococos constitui uma preocupação adicional à terapia endodôntica, em decorrência da dificuldade de sua eliminação e, muitas vezes, necessitar de tratamento por um período mais prolongado.

No entanto, foi somente com o trabalho de Kakehashi, Stanley e Fitzgerald (1965) que a importante relação entre bactérias e o desenvolvimento de reação inflamatória periapical ficou demonstrada em estudo envolvendo ratos dotados de natural microbiota e ratos gnotobióticos. Polpas desses animais foram expostas ao meio bucal. Os autores observaram que em ratos isentos de microrganismos a reação inflamatória pulpar foi mínima e que processo de cura desenvolveu-se no sítio da exposição, apesar do dano tecidual e impacção de alimentos. Nos ratos convencionais uma resposta inflamatória severa estabeleceu-se, resultando em necrose pulpar, abscessos e periodontites apicais. Além da íntima relação entre microrganismos e lesão periapical, um outro aspecto importante a ser ressaltado é que a ausência de infecção em muito facilita a reparação.

Onze anos mais tarde Sundqvist (1976), em sua tese de doutoramento, confirma em humanos os achados de Kakehashi, Stanley e Fitzgerald (1965). Sundqvist analisou microbiologicamente dentes com canais portadores de necrose pulpar em função de trauma dental e somente isolou microrganismos daqueles canais que apresentavam lesão periapical. Em dentes com tecido pulpar necrótico,

mas sem evidências clínicas de manifestações apicais, microrganismos não foram isolados. Desse modo, mostrou a íntima relação entre desenvolvimento de lesão periapical e presença de microrganismos. Com isso deixou também bastante aclarado que somente tecido pulpar necrótico, por si só, não propicia condições capazes de gerar reação inflamatória periapical.

Akpata e Blechman (1982), desenvolveram um modelo experimental para estudo da invasão bacteriana em nível dos túbulos dentinários. Quatorze dentes recém-extraídos foram instrumentados com solução salina e contaminados por bactérias anaeróbias estritas (*Bacteroides melaninogenicus* e *Peptococcus assacharolyticus*) e facultativas (*Streptococcus faecalis* e *Streptococcus sanguis*). A análise foi realizada relacionando-se o terço radicular com o período de incubação. Os resultados revelaram que *Streptococcus faecalis* foi o microrganismo que invadiu mais túbulos dentinários em 3 semanas de observação, sendo essa invasão mais expressiva no terço cervical, menos no terço médio da raiz e ainda menos no terço apical.

Procurando relacionar a presença de microrganismos com reação inflamatória nos tecidos periapicais, Wu, Moorer e Wesselink (1989) simularam infecção endodôntica encerrando, no subcutâneo de ratos, tubos de polietileno contendo bactérias em seu interior, em períodos de 2 e 4 semanas. Quatro diferentes combinações de nove espécies bacterianas foram testadas: I - anaeróbios estritos, II - facultativos, III - todas essas espécies combinadas e IV - facultativos e *Bacteroides*. Os resultados mostraram que houve mudanças qualitativa e quantitativa da microbiota, quando comparada ao inóculo original, durante o período de avaliação. Os anaeróbios estritos predominaram os facultativos no final do período experimental. Quanto às reações teciduais, o inóculo que continha população

bacteriana mista causou reação inflamatória mais severa nos tecidos ao redor do implante que o inóculo contendo somente bactérias facultativas.

Ando e Hoshino (1990) colheram amostras de dentina em profundidades que variavam de 0,5 a 2,0 mm, à partir do canal radicular em direção ao cimento, para confirmarem a presença e o tipo de bactéria que invade os túbulos dentinários, quando da infecção endodôntica. Os espécimes foram processados aeróbica e anaerobicamente para identificação microbiológica. Das 256 bactérias isoladas, 80% eram anaeróbias estritas e 20% facultativas. Os achados sugeriram que o ambiente dos túbulos dentinários é anaeróbio e favorece o crescimento desse tipo respiratório de bactéria. Esses microrganismos, não sendo eliminados pelo preparo do canal, podem alcançar os tecidos perirradiculares, perturbando o processo de cura. O uso de drogas antibacterianas pode ser um caminho para a erradicação da infecção em profundidade.

Sen, Piskin e Demirchi (1995) investigaram a topografia da microbiota de canais infectados sediada no canal principal e nos túbulos dentinários. Dez dentes com polpa necrótica e sem tratamento endodôntico prévio foram extraídos e preparados para MEV. Todos os espécimes mostraram microrganismos, especialmente, nas paredes do canal e também nos túbulos dentinários, particularmente, nos terços médio e apical das raízes. A profundidade de penetração bacteriana em túbulos dentinários limitou-se às proximidades do canal. A microbiota era constituída de cocos e bacilos em 6 dentes, enquanto que em 4 espécimes foram observados fungos, na forma de leveduras, ao longo das paredes do canal, os quais formavam colônias separadas. Entenderam os autores que o efeito antimicrobiano dos produtos empregados na desinfecção endodôntica devem

contemplar também esse aspecto, mormente quando da ocorrência de infecções persistentes.

Bonifácio et al. (2000) examinaram na MEV 8 dentes portadores de necrose pulpar acompanhados de lesão periapical, sem tratamento endodôntico prévio e encontraram, em 100% dos casos, microrganismos na superfície radicular. Os tipos morfológicos encontrados foram cocos, bacilos e filamentosos e o biofilme apical foi evidenciado em todos os espécimes.

Quando tudo isso, comprovado e mostrado nos estudos acima, ocorre, os tecidos periapicais deflagram a reação inflamatória, definindo a periodontite apical, a qual reflete uma importante defesa no sentido de impedir a disseminação da infecção para outras regiões, confinando a mesma ao sistema endodôntico (NAIR 2004).

Por isso que, segundo Zendher (2006) os irrigantes endodônticos devem possuir amplo espectro antimicrobiano frente a bactérias planctônicas ou em biofilme, capacidade de dissolução tecidual, atuar sobre endotoxina bacteriana e também sobre o *smear layer* e não ser alergênico. Assim sendo, as substâncias químicas deverão agir sobre microrganismos e seus subprodutos presentes no canal principal, canais acessórios, ramificações, istmos e no interior dos túbulos dentinários, daí a necessidade de aumentar a permeabilidade da dentina. Para tal, soluções de hipoclorito de sódio e agentes quelantes são extremamente eficientes na conquista desse alvo (MONTEIRO et al., 2008)

Quando finda a terapia endodôntica, o foco maior recai sobre a completa impermeabilização do sistema de canais a fim de impedir uma possível reinfecção. Materiais obturadores cada vez mais adesivos à estrutura dentinária são desenvolvidos buscando o selamento tridimensional da cavidade endodôntica.

De igual importância nesse momento é a restauração do dente tratado endodonticamente. Em muitas situações, o uso de retentores intra-radiculares ou preenchimentos inseridos em nível da câmara pulpar se fazem necessários ao desenvolvimento da restauração dentária. Em ocasiões como essas, nem sempre é possível a atuação profissional sob isolamento absoluto ficando então a dentina exposta pelo necessário preparo vulnerável. A incidência de canais acessórios nessa região (GUTMANN, 1978; KOENIGS, BRILLIANT, FOREMAN, 1974; PERLICH, READER, FOREMAN, 1981; PRADA et al., 1994; VERTUCCI, WILLIAMS, 1974;) não deve ser menosprezada, aliada ao aumento da permeabilidade alcançado durante a fase de preparo químico-cirúrgico. O tecido dentinário na região de furca pode representar uma importante via de ingresso microbiano caso nenhum procedimento impermeabilizante seja considerado.

2.4 Agentes químicos e físicos empregados como seladores da dentina

2.4.1 Ferrocianeto de prata

A busca por agentes impermeabilizantes da região de furca de dentes humanos é uma preocupação que já vem de algum tempo. Pioneiramente, foi motivo de preocupação de Costa, Costa e Antoniazzi (1976) os quais desenvolveram pesquisa valendo-se da aplicação de ferrocianeto de prata sobre a dentina remanescente exposta após a conclusão do tratamento de canais radiculares. Nesse

trabalho observaram que o ferrocianeto de prata formou não apenas uma película sobre a superfície dentinária, mas difundiu-se para a intimidade dos túbulos impedindo a difusão de um corante empregado como agente traçador.

2.4.2 Vernizes cavitários, isobutil cianoacrilato, adesivos dentinários

Costa, Costa e Antoniazzi (1985) analisaram a capacidade de vernizes cavitários do tipo Copal em comparação ao ferrocianeto de prata no proporcionar de impermeabilização da dentina radicular após o tratamento seguido do preparo de espaço para inserção de retentor intra-radicular. Verificaram que quando não se impermeabilizava a dentina a penetração do corante indicador se deu totalmente nos três terços radiculares e que os vernizes reduziram os índices de permeabilidade dentinária, tendo o verniz Copalite oferecido os melhores resultados. O ferrocianeto de prata produziu total impermeabilização das paredes dentinárias.

Lage-Marques, Conti e Antoniazzi (1992) propuseram o uso do isobutil cianoacrilato (Histoacryl) como agente impermeabilizante do assoalho de câmaras pulpares de dentes tratados endodonticamente valendo de uma solução de Rhodamine B como agente indicador. Puderam observar que nos espécimes que receberam a aplicação do isobutil cianoacrilato não ocorreu infiltração do corante na dentina de nenhum dos espécimes.

Cipelli, Bombana e Antoniazzi (1995) avaliaram a capacidade de impermeabilização da dentina radicular em espaços preparados para inserção de retentor intra-radicular. Para tal empregaram um verniz do tipo Copal, o verniz

Dentino-S, Histoacryl e o adesivo dentinário Tenure. Observaram bons resultados com o verniz tipo Copal (Copalite) e com o isobutil cianoacrilato (Histoacryl), não oferecendo o verniz Dentino-S e o adesivo Tenure impermeabilização satisfatória.

Lauretti (1996), empregando Rhodamine B em solução a 1%, avaliou a permeabilidade dentinária na região de furca de molares inferiores humanos, diante do tratamento ou não, do assoalho das câmaras pulpareas por meio do uso de substâncias químicas auxiliares em comparação a espécimes que receberam o mesmo tratamento químico, porém, tiveram a dentina impermeabilizada por vernizes do tipo Copal de diferentes procedências. Verificou que os vernizes (Copalite e Cavatine) mostraram-se eficientes e estatisticamente idênticos na capacidade de impermeabilização da dentina da região de furca.

A impermeabilização da dentina intra-radicular com cianocrilato de etila, verniz tipo Copal e adesivo dentinário após o preparo químico-cirúrgico foi avaliada por meio de leituras indicativas da infiltração de corante por Lauretti (1999). O cianocrilato de etila promoveu a impermeabilização total das paredes intraradiculares, enquanto que entre o Copalite® e o adesivo dentinário não houve diferença estatisticamente significativa.

Souza (2000) analisou a eficácia da impermeabilização da dentina radicular com verniz tipo copal, em dentes obturados com os cimentos N-Rickert e Sealer-26 e preparados para retentor intra-radicular, empregando método de infiltração e quantificação do nível de endotoxina. A avaliação da penetração da endotoxina foi analisada no sentido do interior do canal para o exterior (lateral) e no sentido da coroa para o ápice. Os resultados mostraram que a endotoxina penetrou apical e lateralmente em todos os grupos experimentais, porém quase sempre os valores

foram inferiores ao padrão de 0,15 UE/mL. As médias da infiltração da endotoxina foram menores quando o verniz tipo copal foi utilizado.

2.4.3 Fluoreto de Titânio

A procura de agentes capazes de impermeabilizar a dentina radicular que fica exposta após o tratamento endodôntico passou também por propostas que indicaram para tal mister o uso de soluções de fluoreto de titânio (TiF_4).

Sen e Buyukylmas (1998) valendo-se de microscopia eletrônica de varredura avaliaram os efeitos de uma solução de TiF_4 a 4% em paredes dentinárias radiculares impregnadas ou não por magma dentinário. Empregaram 44 espécimes divididos em dois grupos. O grupo um foi composto por 32 espécimes nos quais deixaram permanecer o magma dentinário e o grupo dois foi quimicamente tratado por soluções de hipoclorito de sódio e de EDTA. Em seguida a superfície dentinária foi irrigada com a solução de TiF_4 durante um minuto. Os resultados evidenciaram que a solução de TiF_4 modificou o magma dentinário formando uma camada sólida e resistente que obstruía os túbulos dentinários, enquanto que nos dentes em que o magma foi removido formava-se uma camada granular nas dentinas inter e intratubular.

Kazemi, Sem e Spangberg (1999) avaliaram o efeito na permeabilidade dentinária de soluções de TiF_4 em soluções de 0,1; 0,5 e 1% em comparação com soluções de fluoreto de sódio e de flúor fosfato acidulado, tendo como controle a

água destilada. Verificaram que em todos grupos fluoretados ocorreu redução na permeabilidade dentinária em relação ao grupo controle.

Abreu (1999) avaliaram o efeito da aplicação da solução de TiF_4 alterando o tempo de irrigação da dentina de canais radiculares em um e três minutos, com e sem a remoção do magma dentinário, não verificando diferenças estatísticas significantes entre os grupos.

Sanchez (1999) também avaliou os efeitos da solução TiF_4 a 4% após medicação intracanal com hidróxido de cálcio, tendo ademais como fonte de variação o emprego de ácido cítrico ou de EDTA-T 17%. Verificou que em todas as amostras onde empregou a solução de TiF_4 houve diminuição da permeabilidade dentinária, evidenciada pelo emprego de solução de Rhodamine B a 1%.

Cardoso (2000) realizou um estudo comparando a ação das soluções de TiF_4 EDTA-T 15% e soro fisiológico quando aplicadas às paredes de canais radiculares obturados e preparados para inserção de retentor intra-radicular. Os produtos eram inseridos no canal radicular e aí deixados por três minutos. Após isso promovia a remoção do excesso, secagem da dentina, aplicação de solução de Rhodamine B a 1%, seguindo-se cortes transversais para avaliação dos índices de infiltração por meio de leituras conduzidas com auxílio de uma lupa estereoscópica. Concluiu que a solução de TiF_4 efetivamente proporcionou diminuição da permeabilidade dentinária.

Brzozowski (2002) também avaliou a influência da aplicação do TiF_4 na permeabilidade dentinária do sistema de canais radiculares. Observou que todos os espécimes dos grupos experimentais que receberam aplicação de TiF_4 apresentaram menores índices de infiltração frente a ação do corante traçador embora diante de diferenças estatisticamente significantes entre os terços cervical, médio e apical.

2.4.4 Cimentos endodônticos

Os cimentos endodônticos possuem papel de suma importância no tratamento endodôntico, pois esses permanecerão no interior do canal radicular após todo o preparo químico cirúrgico e desinfecção do sistema de canais radiculares. Assim, esses cimentos devem possuir propriedades físicas, como adesividade e bom escoamento, para que haja a máxima vedação no sistema de canais radiculares, e biológicas, para não ocorrer irritação nos tecidos periapicais e, até mesmo, ação antimicrobiana, para que dificultar recontaminação (LEONARDO, 2005).

Martins (2000) empregando 40 dentes molares inferiores humanos, infiltração por uma solução de azul-de-metileno e leituras em lupa estereoscópica, demonstrou ser possível impermeabilizar satisfatoriamente a dentina do assoalho da câmara pulpar de molares humanos endodonticamente tratados por meio da aplicação de uma camada de cimento endodôntico epóxico (AH-Plus).

A resistência de união à dentina, selamento apical e características físicas do AH Plus e do Epiphany foram estudadas por Souza (2007). Setenta e dois pré-molares humanos unirradiculares foram preparados endodonticamente, sendo que trinta e três dentes foram divididos aleatoriamente em 3 grupos, impermeabilizados externamente e obturados como segue: AH Plus (AH Plus/guta-percha); AH Primer (Epiphany primer/AH Plus/guta-percha) e Epiphany (sistema Epiphany). Foram mantidos a 37 °C e 100% de umidade por 72 h e, em seguida, imersos em solução aquosa de nitrato de prata a 50% por 24 h. Após esse período foi realizada secção longitudinal dos dentes, que foram replicados em resina epóxica. Réplicas e

espécimes foram preparados para MEV. Foram observadas tanto regiões com fendas quanto com camada híbrida e longos *tags* para o grupo Epiphany. Para os grupos AH Primer e AH Plus foi verificada boa adaptação marginal com longos *tags* não sólidos e pequenos *plugs*, respectivamente, embora tenha ocorrido a formação de fendas em ambos. Os outros dentes foram utilizados para as avaliações adicionais: seis, para complementar o estudo micromorfológico da interface adesiva; três, para o ensaio de microdureza Knoop; e, trinta, para o teste de resistência de união. O cimento Epiphany mostrou maior escoamento e tensão de polimerização, e a menor resistência de união. Os valores de microdureza Knoop decresceram acentuadamente de cervical para apical. Com isso, a autora concluiu que a total impermeabilização do sistema de canais radiculares não foi obtida com nenhum dos cimentos testados, e que o sistema Epiphany formou mais fendas no ápice.

Pereira et al. (2007) compararam a capacidade seladora dos cimentos endodônticos RoekoSeal, AH Plus e EndoRez em pré-molares de cães. Setenta e quatro dentes foram tratados endodonticamente, obturados com guta-percha e os devidos cimentos e espaços preparados para retentor foram feitos de modo que o terço apical continuasse com os materiais obturadores (aproximadamente 4 mm). Os dentes foram selados por 24 horas, e após isso reabertos e mantidos expostos por 45 dias na cavidade bucal. Passado esse período foi realizada a ortotanásia e os dentes extraídos imersos em tinta nanquim por 96 horas. Os resultados mostraram que o cimento Endo-Rez apresentou menos infiltração que o RoekoSeal e não houve diferença estatisticamente significante entre o cimento AH Plus e os demais.

A adesividade dos cimentos Epiphany e AH Plus à dentina radicular previamente tratada com hipoclorito de sódio a 1% e EDTA a 17% foi avaliada por Nunes et al. (2008), pelo método do *push-out*. Sessenta cilindros de raízes de

caninos superiores humanos foram preparados e distribuídos em 3 grupos (n=20) de acordo com o tratamento da dentina: GI água destilada (controle), GII hipoclorito de sódio 1% e GIII EDTA 17 %. Esses grupos de corpos-de-prova foram distribuídos em 2 subgrupos para receber os cimentos obturadores a serem testados: Ephiphany e AH Plus. Os resultados mostraram que o cimento AH Plus apresentou valores de adesividade superiores aos obtidos pelo cimento Epiphany, independente do tratamento realizado nas paredes dos canais radiculares.

2.4.5 Laser

O primeiro estudo envolvendo o uso de laser em Odontologia foi realizado por Stern e Sogannaes (1964). Eles utilizaram o laser de rubi e aplicaram em tecidos dentais *in vitro*. Esses autores constataram que a aplicação desse tipo de laser reduzia a permeabilidade dentinária e promovia a ablação desses tecidos dentais.

Em Odontologia são utilizados lasers de baixa e de alta potência.

O laser de baixa potência é utilizado como coadjuvante no alívio da dor, na reparação tecidual, acelerando a velocidade de cura. Na Endodontia, tem sido utilizado no controle da dor em casos de hipersensibilidade dentinária. Os estudos têm demonstrado diminuição de até 98% da dor relatada pelos pacientes (AUN, BRUGNERA, VILLA, 1989; BRUGNERA-JUNIOR et al., 1999).

Os desenvolvimentos tecnológicos, na área de laser, foram intensos. Javan, Bennett e Herriot (1961) construíram o primeiro laser não cirúrgico de He-Ne, e Johnson (1961) construiu o laser cirúrgico de Nd:YAG. Em 1964, surgiu o laser de

dióxido de carbono (PATEL; MAC FARLANE; FAUST, 1964), e Hibst e Keller (1989) apresentaram o laser de Er:YAG. Cada um desses tipos de laser tem sua peculiaridade, pois são oriundos de diferentes meios. Portanto, emitem luz de diferentes comprimentos de onda e têm efeitos específicos sobre tecidos do organismo.

Na área específica da Endodontia, as investigações com diferentes tipos de laser foram realizadas na tentativa de estabelecer parâmetros seguros para a aplicação clínica. Os efeitos de diferentes tipos de laser sobre a permeabilidade da dentina das paredes dos canais radiculares foram estudados por Brugnera Junior (2001), Meserendino, Levy e Rizoio (1995), Pécora et al. (2000), Schaller, Weihing e Stub (1997) e Stabhölz et al. (1992).

Dederich, Zakariesen e Tulip (1984) utilizaram cinco caninos superiores seccionados vestibulo-lingualmente para analisar, através de MEV, as paredes dentinárias do canal radicular após irradiado com o laser de Nd:YAG. Os autores criaram pequenas áreas circulares nas concavidades das paredes do canal com auxílio de brocas. Os espécimes secos foram irradiados em potências que variavam de 10 a 90 W por 0,1 a 0,9 s. Os resultados mostraram que, dependendo da potência, tempo e cor da dentina, ou não houve alteração da mesma, ou houve desorganização do *smear layer* ou a fusão e recristalização da dentina. A parede dentinária do canal, quando recristalizada, apresentava-se não-porosa, sem solução de continuidade, apresentando permeabilidade reduzida aos fluidos.

Tani e Kawada (1987) investigaram a possibilidade de remover a *smear layer* pela irradiação, de modo desfocado, com laser de Nd: YAG e de CO₂. A análise, por meio de MEV, evidenciou que esses tipos de laser, aplicados de modo desfocado, induziam alterações na *smear layer* e salientaram que, dependendo do nível de

irradiação, a *smear layer* que estava sobre a dentina intertubular poderia ser satisfatoriamente removida e o *smear plug* presente na luz dos túbulos dentinários podia se derreter, obliterando-os.

Gutknecht e Behrens (1993) investigando os efeitos do laser Nd:YAG sobre o magma formado durante a instrumentação do canal, afirmaram que o magma é completamente removido e os túbulos dentinários obliterados, usando 15 Hz e 1,5 W.

As alterações morfológicas das paredes do canal radicular irradiadas pelo laser Nd:YAG foram estudadas por Lage-Marques, Eduardo e Matsumoto (1995). A fibra óptica do laser era movida no sentido ápice-coroa de forma a contatar o maior número de orifícios de túbulos dentinários dentro do canal, sendo que a mesma estava em contato direto com a parede do canal do terço apical. A melhor energia para se irradiar a dentina apical foi de 1 W, 20 Hz por 10 s e, para as paredes do canal radicular, 2,25 W, 20 Hz por 20 s. Os autores concluíram que os *debris* e o *smear layer* são removidos e os túbulos dentinários fecham se a irradiação com o laser Nd:YAG seguir os parâmetros acima.

Anic, Tachibana e Masumoto (1996) investigaram a ação dos lasers de Nd:YAG, CO₂ e Argônio sobre a permeabilidade dentinária e as alterações de temperatura que ocorrem nas paredes dos canais radiculares quando das suas utilizações. A permeabilidade foi observada pela penetração do corante azul-de-metileno na dentina. Os autores constataram aumento na permeabilidade dentinária após aplicação dos três tipos de laser, nos terços cervical e médio. Entretanto, foi observada redução da permeabilidade no terço apical após o uso dos lasers de CO₂ e de Nd: YAG.

Silva (2000) associou o emprego do laser Nd:YAG com 100 mJ, 1.5 W, 15 Hz, 4 vezes, com velocidade próxima a 2 mm/segundo e com diferentes substâncias químicas para investigar a permeabilidade dentinária pós-preparo químico-cirúrgico. O autor observou que a permeabilidade dentinária ao corante azul-de-metileno foi menor nos dentes irradiados do que nos não irradiados após a instrumentação.

O laser Nd: YAG foi usado por Lee et al. (2002) para analisar a mudança estrutural ocorrida quando aplicado em dentina humana. Os autores utilizaram molares humanos hígidos extraídos por motivos diversos. Tecidos remanescentes foram removidos em cuba ultra-sônica. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Grupo A, irradiados com laser nos parâmetros de 100 mJ, 10 Hz por 4 segundos e Grupo B, que não receberam irradiação do laser. Os resultados mostraram que a dentina nos dentes irradiados sofreu uma mudança estrutural comparada com a dentina dos dentes não irradiados.

Gelkeman, Prokopowitsch e Eduardo (2002) irradiaram canais radiculares com laser de Nd:YAG com 100 mJ, 1 W e 10 Hz por 3 segundos e obturaram em seguida para avaliar a permeabilidade apical. Os autores observaram uma menor infiltração do corante e no MEV foi encontrada uma superfície derretida e solidificada.

O selamento apical de canais radiculares obturados com laser de Nd:YAG e Er:YAG foi analisado por Talge-Carvalho et al. (2002). Os resultados mostraram que o grupo irradiado com laser de Nd:YAG com 100 mJ, 1,5 W e 15 Hz foi o que obteve menor infiltração, seguido do grupo controle, que foi somente preparado e irrigado com EDTA. O grupo irradiado com o laser de Er:YAG com 120 mJ, 1,2 W e 10 Hz produziu maior infiltração apical.

Arisu et al. (2004) compararam a mudança morfológica e a permeabilidade da dentina na superfície apical de dentes com retropreparos irradiados com laser Nd:YAG. Setenta e cinco dentes unirradiculares anteriores extraídos foram usados nesse estudo. As coroas dos dentes foram cortadas e o comprimento dos canais medidos 1 mm aquém do forame apical. Os canais foram preparados e obturados com cones de guta-percha e cimento AH-26 com técnica de condensação lateral. Foram cortados 3 mm do ápice de cada dente e preparadas cavidades apicais tipo Classe I com profundidade e diâmetro de 2 mm. Os dentes foram então divididos aleatoriamente em 5 grupos de 15 dentes cada, onde 10 foram usados nos estudos de microinfiltração e os outros 5 para MEV. A dentina apical da superfície cortada de cada grupo foi irradiada com diferentes parâmetros do laser Nd: YAG, como segue: Grupo 1 – 100 mJ, 20 Hz e 2W sem corante; Grupo 2 – 160 mJ, 20 Hz e 3,2 W sem corante; Grupo 3 – parâmetros iguais ao do Grupo 1 mas com a superfície apical tingida com tinta da Índia; Grupo 4 – parâmetros iguais ao do Grupo 2 com superfície apical tingida com tinta da Índia; e, Grupo 5 – controle, sem irradiação laser. As cavidades apicais dos dentes analisados na microinfiltração foram restauradas com amálgama e os dentes foram imersos em fucsina por 48 horas. Os resultados ao microscópio eletrônico mostraram que os grupos 1 e 2 obtiveram uma fina camada de *smear layer* na superfície e áreas de *melt*, já os grupos 3 e 4 obtiveram áreas densas de *melting* seguidas de solidificação e recristalização das áreas de dentina. Já na microinfiltração, houve diferença estatística somente entre os grupos 2, 3 e 4 quando comparados ao controle.

A permeabilidade dentinária marginal da superfície de corte após apicectomia e preparo de retrocavidades com os lasers Er: YAG e Nd: YAG foi avaliada com o auxílio do corante azul-de metileno e leitura na MEV, por Oliveira et al., em 2004.

Vinte e quatro dentes extraídos e tratados endodonticamente foram divididos em 3 grupos: GI, com ápices cortados e a superfície dentinária de corte irradiada com laser de Er: YAG (350 mJ; 4 Hz) e retrocavidade realizada com o mesmo laser (120 mJ; 4 Hz) e uma broca 2051; GII, a apicectomia foi realizada semelhante ao GI, mas a superfície dentinária de corte e a retrocavidade irradiada com o laser Nd: YAG (100 mJ; 15 Hz); e GIII brocas de alta rotação foram utilizadas. Os resultados mostraram que os grupos irradiados com laser obtiveram menos infiltração de corante que o que não foi irradiado e as imagens na MEV mostraram que os mesmos apresentavam mudanças estruturais e morfológicas nas superfícies irradiadas.

Aranha et al. (2005) analisaram os efeitos dos lasers Nd: YAG e Er: YAG na redução da permeabilidade dentinária pela obliteração dos túbulos dentinários. O laser de Nd: YAG foi irradiado com dois parâmetros: um com 1,0 W e 10 Hz e outro com 1,5 W e 15 Hz, já o laser de Er: YAG foi irradiado com 60 mJ e 2 Hz. Depois da irradiação todas as amostras foram imersas em solução de Rodamina B a 1 % por 30 minutos e as imagens analisadas no *Image Lab*. Os resultados mostraram que tanto o laser Er: YAG quanto o Nd: YAG (1,5 W; 15 Hz) são úteis para diminuir a permeabilidade dentinária.

Santos et al. (2005) analisaram a diferença na morfologia da dentina radicular irradiada com diferentes parâmetros do laser Nd: YAG. Quarenta e oito caninos superiores humanos foram usados neste estudo. Suas coroas foram cortadas e com uma lima de número 10, o comprimento de seus canais foram medidos 1 mm aquém do ápice. Posteriormente, foram divididos aleatoriamente em 4 grupos com 12 dentes cada e irradiados nos seguintes parâmetros: Grupo I com 1 W e 10 Hz; Grupo II com 1 W e 20 Hz; Grupo III com 3 W e 10 Hz; e, Grupo IV com 3 W e 20

Hz. Dois espécimes de cada grupo foram seccionados longitudinalmente e a irradiação laser foi aplicada perpendicularmente à superfície do canal radicular, sendo que um espécime foi deixado no EDTAC 17% por 5 minutos, antes da irradiação. Os outros 10 espécimes de cada grupo receberam a irradiação no sentido ápico-cervical em movimento de pendulo numa velocidade constante de 2 mm/s totalizando 1 minuto. Nos espécimes seccionados longitudinalmente observou um *melting*, indicando a recristalização da hidroxiapatita, sendo que nos espécimes que houve a remoção do *smear layer* pelo EDTAC 17% antes da irradiação foi observado mais túbulos dentinários abertos quando comparados com os que não passaram pelo EDTAC 17%. Nos outros 10 espécimes observou que apenas no Grupo IV houve formações globulares, de *melting*, nos Grupos II e III observaram-se apenas formações globulares e no Grupo I não apresentou nenhuma formação globular. Os autores concluíram que quanto maior a potência mais há formação de *melting*.

Uma comparação do efeito causado na obliteração dos túbulos dentinários da dentina exposta entre o laser de Nd: YAG e o creme dental Sensodyne foi feita por Al-Azzawi e Dayem (2006). Quarenta dentes humanos superiores anteriores, extraídos foram tratados endodonticamente e seus canais obturados, logo depois armazenados em umidade 100 %, a 37 °C por 48 horas, para presa final do material obturador. Os espécimes foram examinados usando stereomicroscopio para mostrar a topografia da superfície da dentina antes e depois do tratamento com Nd: YAG ou Sensodyne. Os dentes foram divididos aleatoriamente em 5 grupos: Grupo 1: dez dentes foram irradiados com laser Nd: YAG com 100 mJ, 100 Hz por 2 segundos, no local aonde a dentina estava exposta, e este local foi coberto com nanquim, grupo 2: dez dentes foram escovados, no local da exposição dentinária, com 10 g de creme

dental Sensodyne por 2 vezes, grupo 3: dez dentes não foram irradiados com laser Nd: YAG e nem escovados com creme dental Sensodyne, grupo 4 (controle positivo): cinco dentes não foram obturados, mas a dentina foi exposta, e, grupo 5 (controle negativo): cinco dentes foram obturados e suas dentinas não foram expostas. Após os tratamentos realizados, seguindo a metodologia da pesquisa, os dentes foram imersos em corante por 72 horas. Os resultados mostraram que o corante penetrou menos nos dentes irradiados com laser de Nd: YAG e a análise microscópica mostrou maior deposição de dentina nos dentes irradiados com laser Nd: YAG.

Zapletalová et al. (2007), aplicaram laser de Nd:YAG, comparando diferentes parâmetros, no tratamento de hipersensibilidade dentinária. Cento e nove amostras de dentina, de terceiros molares humanos extraídos, na forma círculo de 2 mm ou 3 mm e facetas de uma superfície convexa exterior de uma raiz foram irradiados. A frequência utilizada foi de 15 Hz e as energias foram mudadas de 20 mJ a 250 mJ. Corantes incluindo tartrazina, carmim de índigo, eritrosina e azul-de-metileno foram usados para cobrir as superfícies dentinárias e aumentar absorção de radiação de laser. Os resultados observados foram analisados pela MEV e mostraram que os túbulos dentinários são obliterados independente do uso de corante quando a energia aplicada é intensa. A eritrosina apresentou melhor resultado com energia 30 mJ.

PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve por objetivo, valendo-se de método de infiltração bacteriana, avaliar *in vitro* a capacidade seladora de diferentes materiais, associados ou não à aplicação de radiação laser, na região de furca de molares inferiores humanos tratados endodonticamente.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção dos espécimes

Foram selecionados 48 molares inferiores humanos provenientes do Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. A presente pesquisa foi avaliada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP.(Anexo A).

A seleção dos dentes a serem empregados no experimento se deu conforme os seguintes requisitos:

- ✓ dentes multirradiculares;
- ✓ dentes permanentes portadores de rizogênese completa;
- ✓ dentes sem qualquer intervenção endodôntica prévia;
- ✓ dentes portadores de câmara pulpar fechada;
- ✓ ao exame radiográfico, canais radiculares sem evidências de esclerose pulpar avançada.

4.2 Preparo dos espécimes

Os dentes foram limpados com auxílio de curetas e raspadores periodontais, permanecendo em solução fisiológica durante uma semana para reidratação. Decorrido esse período foram submetidos aos seguintes procedimentos:

1. **cirurgia de acesso à câmara pulpar:** com caneta de alta-rotação sob refrigeração com brocas esféricas de haste longa, de tamanho compatível com o volume da câmara pulpar, avaliado pela radiografia inicial. Brocas de aço de números 2 e 4 e Endo-Z[®] foram empregadas durante essa fase.
2. **preparo das entradas dos canais:** com brocas Largo de números 1 e 2, de acordo com a morfologia de cada um dos espécimes, irrigando-se a câmara pulpar ao final do preparo com 5 mL de solução de hipoclorito de sódio a 1%¹.
3. **secção das raízes:** as raízes foram seccionadas 4 mm abaixo da região de furca com auxílio de cortadora de precisão modelo Labcut seladas com resina na porção inferior do remanescente radicular (figura 4.1).

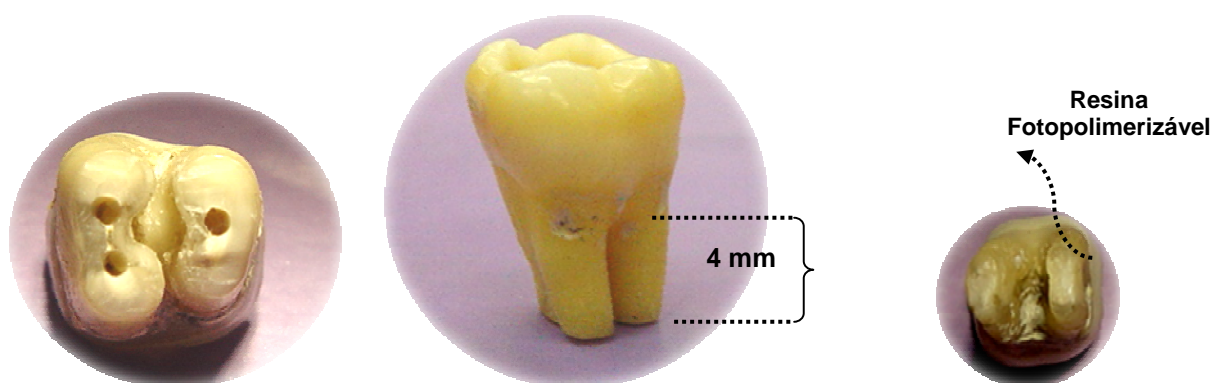


Figura 4.1 – Secção das raízes dos molares inferiores a 4mm abaixo da região de furca e selamento da porção apical com resina fotopolimerizável

¹ Fórmula e Ação Farmácia Magistral Ltda.

4. **atuação das substâncias químicas:** creme Endo-PTC² associado à solução de hipoclorito de sódio 1%³, sob agitação atuaram na câmara pulpar por 45 minutos. Essas substâncias foram trocadas a cada 3 minutos. A irrigação final foi feita com 5 mL de solução de EDTA-T 17%⁴, que permaneceu na câmara pulpar por 3 minutos irrigando-se posteriormente com 10 mL de solução de hipoclorito de sódio 1%⁵.

4.3 Grupos experimentais

Os dentes foram aleatoriamente divididos em cinco grupos experimentais, como segue:

- ✓ **G I** (n=10): impermeabilização da furca com AH-Plus^{®6}
- ✓ **G II** (n=10): impermeabilização da furca com cianoacrilato de etila (Super Bonder^{®7})
- ✓ **G III** (n=10): impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG
- ✓ **G I associado** (n=5): impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG + AH-Plus
- ✓ **G II associado** (n=5): impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG + cianoacrilato de etila

² Fórmula e Ação Farmácia Magistral Ltda.

³ Fórmula e Ação Farmácia Magistral Ltda.

⁴ Fórmula e Ação Farmácia Magistral Ltda.

⁵ Fórmula e Ação Farmácia Magistral Ltda.

⁶ Dentsply Maillefer Swiss

⁷ Loctite

A manipulação dos materiais foi realizada como segue:

- ✓ **AH-Plus:** o cimento endodôntico foi preparado segundo recomendações do fabricante e uma fina camada foi aplicada sobre a furca com auxílio de sonda explorada reta, recobrando-a completamente (figura 4.2).

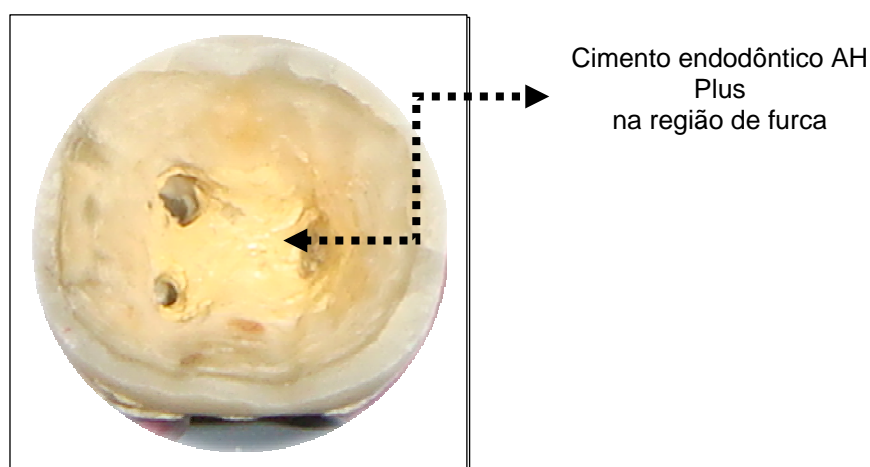


Figura 4.2 – Impermeabilização da furca de molares inferiores com cimento endodôntico AH-Plus

- ✓ **Cianocrilato de etila:** foi aplicada uma camada de cianocrilato de etila (Super Bonder[®]) sobre a furca com o auxílio de pincel micro brush.
- ✓ **Nd:YAG:** no LELO (Laboratório Especial de Laser em Odontologia da FOUSP) foram feitas 3 aplicações de 15 segundos, totalizando 45 segundos, de laser Nd:YAG seguindo os parâmetros: potência de 1 W e frequência de 10 Hz.

Após a aplicação do agente selador, cada dente foi impermeabilizado com 2 camadas de esmalte para unhas em todas as superfícies externas, excetuando-se a

região da furca, com tempo de espera entre as camadas de, aproximadamente 10 minutos (figura 4.3).



Figura 4.3 – Raízes impermeabilizadas externamente com esmalte para unhas, excetuando-se a região de furca

Os espécimes foram incubados durante 7 dias a 37 °C para a presa final do material, em condições de umidade, em estufa do Laboratório do Departamento de Dentística da FOUSP. A seguir, cada dente foi então, individualmente, montado, conforme ilustrado na figura 4.4.

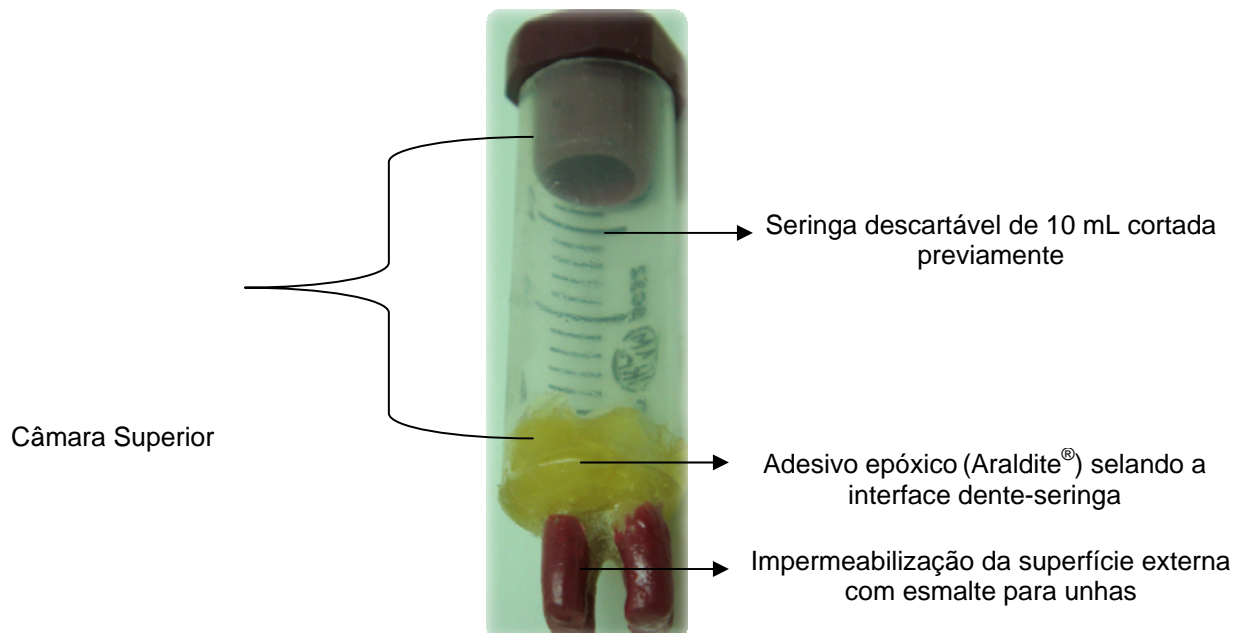


Figura 4.4 – Montagem individualizada dos espécimes

Cada dente assim montado, foi esterilizado em radiação ionizante proveniente do elemento químico Co^{60} , com taxa de dose de 5,5 KGy/h, totalizando 32 KGy no Centro de Tecnologias das Radiações (CTR) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) da Universidade de São Paulo.

A câmara inferior, constituída por uma seringa de 20 mL cortada na altura dos 15 mL, foi esterilizada separadamente do conjunto seringa-dente, em autoclave à temperatura de 121 °C por 15 minutos no Laboratório de Microbiologia Oral do Instituto de Ciências Biológicas II da Universidade de São Paulo.

Todos os procedimentos que se seguiram foram realizados em câmara de fluxo laminar. Tendo os conjuntos seringa-dente e seringa cortada, os espécimes foram montados, selados externamente com silicona pesada para moldagem, Araldite® de cura lenta e Super Bonder®, formando assim, o aparato para o teste de infiltração microbiana (figura 4.5).

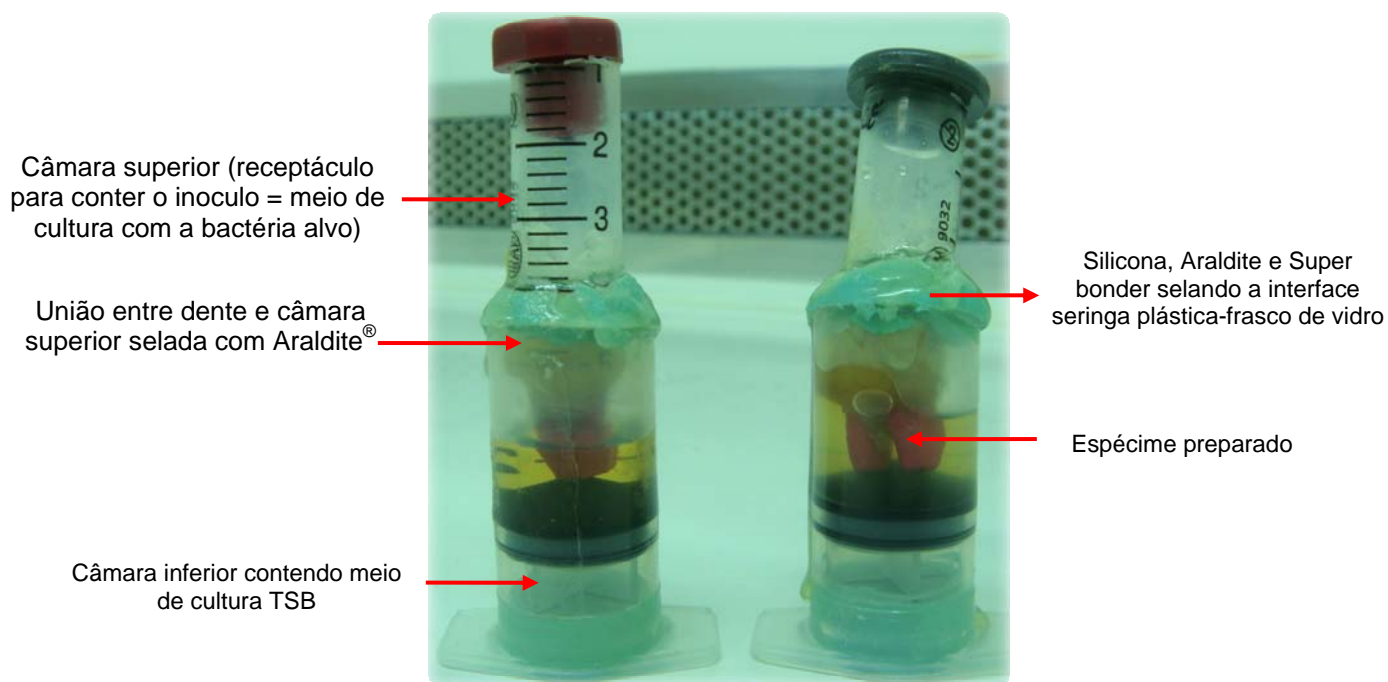


Figura 4.5 – Aparato para o teste de infiltração bacteriana

Importante salientar que as raízes impermeabilizadas e a furca estavam imersas em meio de cultura TSB⁸ (Tryptic Soy Broth, Difco, EUA).

Após esse procedimento, os aparatos ficaram durante 7 dias em estufa microbiológica a 37°C, no Laboratório de Microbiologia Oral do ICB II da USP, para confirmação da esterilização.

4.4 Teste de Infiltração Microbiológica

O microrganismo traçador foi a cepa ATCC 29212 de *Enterococcus faecalis* proveniente do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo. Do estoque puro da bactéria em glicerol a 40%, armazenado sob 70 °C negativos, 5 µL foram transferidos para frascos contendo 5 mL de TSB e incubados a 37 °C durante 12 h em estufa microbiológica no Laboratório de Microbiologia do ICB II da USP. Decorrido esse período, o inóculo foi ajustado com diluição em TSB até a escala 3 Mac Farland, que corresponde a $9,0 \times 10^8$ ufc/mL. A câmara superior foi preenchida com uma suspensão de 500 µL do inóculo previamente ajustado. A cada 2 dias foi removido 200 µL do inóculo da câmara superior e colocado 200 µL de um novo TSB.

O sistema foi incubado a 37 °C e a turbidez do caldo foi observada diariamente em princípio com leituras projetadas para 30 dias.

A cada semana 200 µL do inóculo da câmara superior de 3 espécimes de cada grupo foram depositados em 3 mL de TSB e incubados a 37 °C durante 24 h para verificação da viabilidade das células de *E. faecalis* (controle do experimento).

⁸ Difco, EUA, cod. 0370-17 (Anexo B)

Sempre que ocorreu a turvação do meio de cultura, a data foi anotada e alíquotas de 100 µL foram semeadas em TSA⁹ (Tryptic Soy Agar, Difco, EUA) para verificação morfológica das colônias e identificação presuntiva pela coloração de Gram.

4.5 Grupos controle

Os dentes dos grupos controle foram montados no aparato anteriormente descrito para os grupos experimentais.

- ✓ **Grupo controle da esterilização:** os aparatos, após a esterilização, foram mantidos por 7 dias em estufa microbiológica para verificação da manutenção da esterilidade. O TSB presente na câmara inferior deveria permanecer límpido durante o período de 7 dias.
- ✓ **Grupo controle da viabilidade bacteriana:** a cada semana 200 µL do inóculo da câmara superior de 3 espécimes de cada grupo foram depositados em 3 mL de TSB e incubados a 37 °C durante 24 h para verificação da viabilidade das células de *E. faecalis*, sendo posteriormente 100 µL transferidos para placas de TSA para verificação morfológica das colônias e coloração de Gram.
- ✓ **Grupo controle positivo inicial (n=2):** esses espécimes foram acessados endodonticamente, porém não foram submetidos à ação das substâncias

⁹ Difco, EUA, cod. 0369-17 (Anexo C)

químicas e a região da furca não recebeu nenhum agente impermeabilizante. Esses espécimes receberam o inóculo de *E. faecalis* na câmara superior. A finalidade foi a de observar a permeabilidade natural da furca diante da presença da bactéria-alvo.

- ✓ **Grupo controle positivo final** (n=2): esses espécimes foram preparados igualmente àqueles dos grupos experimentais, tendo as substâncias químicas atuado durante 45 min, somente com a diferença de que esses não receberam nenhum agente impermeabilizante. Esses espécimes receberam o inóculo de *E. faecalis* na câmara superior. A finalidade foi a de observar a permeabilidade da furca submetida à ação das substâncias químicas frente à bactéria-alvo.
- ✓ **Controle negativo inicial** (n=2): esses espécimes foram acessados endodonticamente, porém não foram submetidos à ação das substâncias químicas e a região da furca não recebeu nenhum agente impermeabilizante. Esses espécimes receberam somente o TSB na câmara superior.
- ✓ **Controle negativo final** (n=2): esses espécimes foram acessados endodonticamente, foram submetidos à ação das substâncias químicas durante 45 dias, porém não receberam nenhum agente impermeabilizante. Esses espécimes receberam somente o TSB na câmara superior.

Tabela 4.1 – Distribuição dos grupos controles

Procedimentos	Controle Positivo inicial (n=2)	Controle Positivo final (n=2)	Controle Negativo inicial (n=2)	Controle Negativo final (n=2)
Cirurgia de acesso	Sim	Sim	Sim	Sim
Substâncias químicas	_____	Sim	_____	Sim
Impermeabilizante	_____	_____	_____	_____
<i>E. faecalis</i>	Sim	Sim	Não	Não
Finalidade	Avaliar a permeabilidade natural da furca	Avaliar a permeabilidade da furca depois das SQ	Controle do experimento sem tratamento da furca pelas SQ	Controle do experimento com tratamento da furca pelas SQ

RESULTADOS

5 RESULTADOS

A avaliação da microinfiltração de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) através da região da bifurcação dos molares inferiores foi observada pela turvação ou não do meio de cultura, presente na câmara inferior nos diferentes grupos experimentais, como anteriormente descrito no capítulo de Materiais e Métodos.

Os quatro espécimes dos grupos controle positivo inicial e final apresentaram microinfiltração no 2º dia do experimento. Os grupos controle negativo inicial e final (n=4) não apresentaram microinfiltração durante todo período experimental (figura 5.1).



Figura 5.1 – Controle positivo: turvação do meio de cultura



Figura 5.2 – Controle negativo: ausência de turvação do meio de cultura

Vale lembrar que após a cirurgia de acesso e o emprego de substâncias químicas, conforme descrito no capítulo de Materiais e Métodos, os espécimes foram aleatoriamente divididos nos os grupos experimentais abaixo:

- ✓ **G I** (n=10): impermeabilização da furca com AH-Plus®
- ✓ **G II** (n=10): impermeabilização da furca com cianoacrilato de etila (Super Bonder®)

- ✓ **G III** (n=10): impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG
- ✓ **G I associado** (n=5): impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG + AH-Plus
- ✓ **G II associado** (n=5): impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG + cianoacrilato de etila

No quarto dia de experimento, duas amostras dos grupos **GI**, **GII** e **GII associado** apresentaram microinfiltração, bem como cinco amostras dos demais grupos, **GIII** e **GI associado**. Sendo assim, o grupo **GI associado** fora contaminado totalmente no quarto dia de experimento.

No sexto dia de experimento, quatro amostras do grupo **GI**, duas do grupo **GII** e **GII associado** e três do grupo **GII** apresentaram microinfiltração.

No oitavo dia de experimento três amostras do grupo **GI**, quatro do grupo **GII**, duas do grupo **GIII** e nenhuma do grupo **GII associado** apresentaram microinfiltração.

No décimo primeiro dia uma amostra dos grupos **GI** e **GI associado** e duas do **GII** apresentaram microinfiltração.

Todos os grupos experimentais apresentaram 100% de microinfiltração em 11 dias. No segundo dia, o grupo **GI associado** apresentou 100% de espécimes microinfiltrados. No oitavo dia o grupo **GIII** apresentou, também, 100% de espécimes microinfiltrados. A tabela 5.1 sumariza os resultados acima descritos.

Tabela 5. 1 – Avaliação da microinfiltração de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) nos diferentes grupos experimentais, no período de avaliação

Grupos Experimentais	Espécimes Infiltrados	Espécimes Sem Infiltração	% Infiltração dos espécimes
	4º dia	4º dia	
GI	2	8	20
GII	2	8	20
GIII	5	5	50
GI associado	5	0	100
GII associado	2	3	20
	6º dia	6º dia	
GI	4	4	50
GII	2	6	25
GIII	3	2	60
GII associado	2	1	66
	8º dia	8º dia	
GI	3	1	75
GII	4	2	66
GIII	2	0	100
GII associado	0	1	0
	11º dia	11º dia	
GI	1	0	100
GII	2	0	100
GII associado	1	0	100

GI: impermeabilização da furca com AH-Plus®; **GII:** impermeabilização da furca com cianoacrilato de etila (Super Bonder®); **GIII:** impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG; **GI associado:** impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG + AH-Plus; **GII associado:** impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG + cianoacrilato de etila

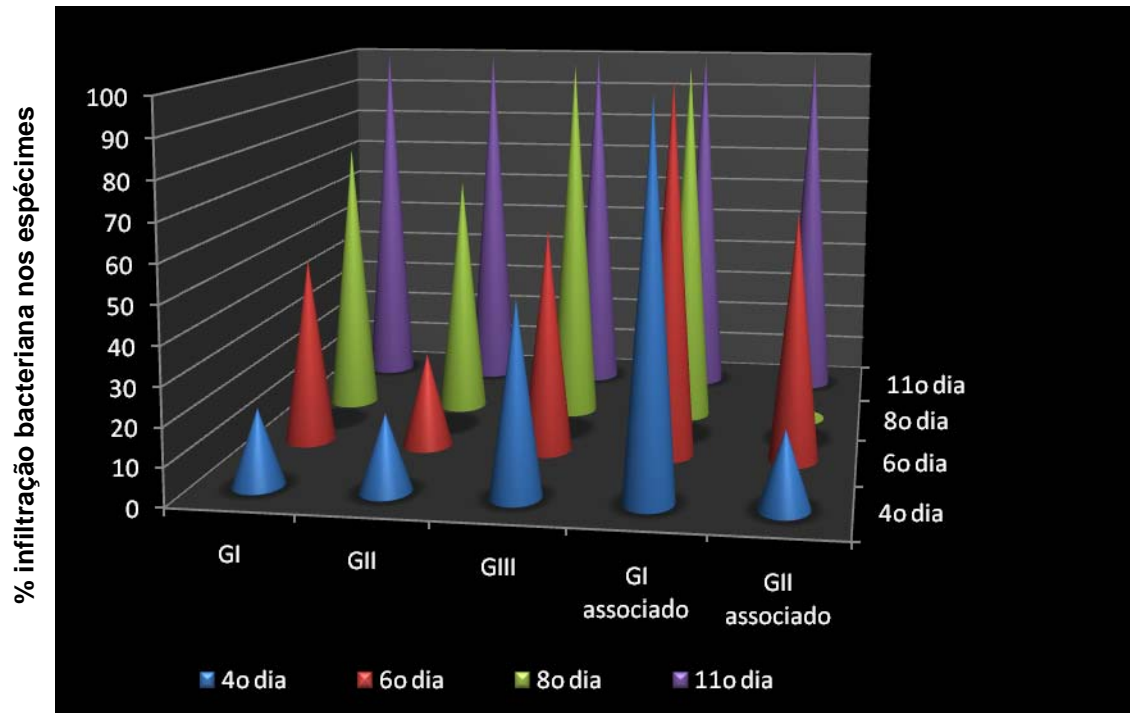


Figura 5.3 – Representativo do percentual de espécimes que apresentaram infiltração nos diferentes grupos experimentais, nos diferentes tempos de avaliação

GI: impermeabilização da furca com AH-Plus®; **GII:** impermeabilização da furca com cianoacrilato de etila (Super Bonder®); **GIII:** impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG; **GI associado:** impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG + AH-Plus; **GII associado:** impermeabilização da furca com aplicação de laser de Nd:YAG + cianoacrilato de etila

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A Endodontia está em constante evolução e aprimoramento, tanto em suas bases teóricas e filosóficas, quanto em sua técnica operatória e cirúrgica. Porém, apesar de tanto avanço, a infecção secundária representa a principal causa do insucesso endodôntico. Microrganismos resistentes ao preparo químico-cirúrgico e medicação intracanal, bem como aqueles que logram infiltrar-se pela coroa dental, encontram na permeabilidade da malha dentinária excelente via de acesso ao sistema de canais radiculares e, até mesmo, aos tecidos periapicais.

Vale ressaltar que a permeabilidade da dentina encontra-se maximizada após os procedimentos endodônticos, facilitando o alojamento dos agentes biológicos, responsáveis pela irritação tecidual (ARAKI, 2007; FERREIRA, 2005; RALDI, 2003). Na região de furca de dentes multirradiculares, especialmente em molares inferiores, muitos são os trabalhos avaliando a freqüência de canais acessórios ou foraminas (GUTMAM, 1978; KOENIGS, 1974; PERLICH, READER, FOREMAN 1981; PRADA et al., 1994). Segundo Perlich, Reader e Foreman (1981) e Prada et al. (1994), a incidência média de foraminas encontradas na região de furca foi de aproximadamente 65 % nos molares estudados, quando analisados por MEV e em microscopia ótica.

Miller (1894) foi o primeiro pesquisador a observar a presença de microrganismos nos canais radiculares. No entanto, foi somente em 1965, que Kakehashi, Stanley e Fitzgerald comprovaram, em ratos, a importante relação entre bactérias e o desenvolvimento de reação inflamatória periapical. Onze anos

mais tarde, Sundqvist (1976) confirmou em humanos os achados de Kakehashi et al.

Após essas descobertas, inúmeros estudos vêm sendo realizados comprovando a existência de microrganismos nos canais radiculares e sua relação com a periodontite apical (NAIR, 2004).

Sendo assim, os profissionais imbuem-se de esforços no sentido de minimizar a carga microbiana e subprodutos bacterianos do sistema de canais radiculares através de instrumentos, substâncias químicas de ação antimicrobiana e medicação intracanal.

Zendher (2006) afirmou que os irrigantes endodônticos devem possuir amplo espectro bacteriano e poder de aumentar a permeabilidade dentinária para que microrganismos alojados nos túbulos dentinários sejam atingidos por tais substâncias durante a fase de preparo, bem como a fase subsequente, de medicação intracanal.

No entanto, quando é chegado o momento de finalizar a terapia endodôntica, o desejo maior é o de impermeabilizar completamente o sistema de canais radiculares, a fim de não mais subsistirem condições propícias à reinfecção.

A busca de materiais que tornem a dentina impermeável é incansável e aparentemente interminável, visto que inúmeros materiais foram desenvolvidos com a intenção de elevar a capacidade de adesão entre si e à dentina e variados outros que foram propostos com fins de controlar a natural permeabilidade dentinária.

Ferrocianeto de prata, vernizes cavitários, isobutil cianoacrilato, adesivos dentinários, fluoreto de titânio, cimentos endodônticos são exemplos de alguns

materiais testados para impermeabilizar a superfície dentinária (ABREU, 1999; BRZOZOWSKI, 2002; CARDOSO, 2000; CIPELLI, BOMBANA, ANTONIAZZI, 1995; COSTA, COSTA, ANTONIAZZI, 1976, 1985; KAZEMI, SEM, SPANGBERG, 1999; LAGE-MARQUES, CONTI, ANTONIAZZI, 1992; LAURETTI, 1996, 1999; MARTINS, 2000; SEM; BUYUKYLMAS, 1998; SANCHEZ, 1999; SOUZA, 2000).

A adesividade dos cimentos endodônticos também é de bastante interesse na Endodontia, visto que, se um cimento endodôntico possuir a capacidade de bem se aderir às paredes dos canais radiculares, haverá melhor impermeabilização do sistema de canal radicular, dificultando a possível infiltração de fluidos capazes de recontaminar uma área já tratada e desinfectada por ações anteriores. O Epiphany, AH Plus, RoekoSeal e Endo Rez foram alguns dos cimentos endodônticos estudados sob o prisma da adesividade (MARTINS, 2000; NUNES et al., 2008; PEREIRA et al., 2007; SOUZA, 2007). Os estudos mostraram que nenhum cimento possui a capacidade de impermeabilizar em absoluto as paredes do canal radicular. Isso nos leva a acreditar que além de realizarmos uma obturação endodôntica tentando impermeabilizar ao máximo possível a estrutura dentinária, temos que também realizar um selamento coronário buscando a máxima perfeição, para que não haja infiltração do meio bucal para o interior do dente.

O interesse pelo uso do laser na Odontologia vem se ampliando significativamente desde um pioneiro estudo sobre o assunto em que foi constatada a redução da permeabilidade dentinária devido à ablação promovida na dentina por essa forma de irradiação (STERN; SOGANNAES, 1964).

O desenvolvimento tecnológico na área do laser foi bastante notável ao longo de décadas servindo em muito e muito se dedicando à área da saúde.

Javan, Bennett, Herriot e Johnson (1961) construíram o laser de He-Ne, não cirúrgico e o de Nd: YAG, cirúrgico; respectivamente.

Já Patel, Mac Farlane e Faust (1964), criou o laser de dióxido de carbono, enquanto que o laser de Er: YAG foi criado por Hibst e Keller (1989).

Cada tipo de laser que foi obtido tem sua peculiaridade, em função de terem caracterizado seu alcance por diferentes meios, tendo cada um tanto comprimento de onda quanto os efeitos específicos, particulares quando aplicados em diferentes tecidos de natureza biológica.

Brugnera-Júnior (2001), Meserendino, Levy e Riziou (1995), Pécora (2000), Schaller, Weihing e Stub (1997) e Stabhölz et al. (1992) e estudaram os efeitos dos diferentes tipos de irradiação de lasers na permeabilidade dentinária dos canais radiculares na tentativa de estabelecer parâmetros seguros para aplicação clínica.

Aun, Brugnera, Villa (1989) e Brugnera-Júnior et al. (1999), demonstraram que o uso do laser de baixa potência diminui a dor, nos casos de hipersensibilidade dentinária, enquanto que Dederich, Zakariesen e Tulip (1984) mostrou que a fusão ou recristalização da dentina depende da potência e do tempo empregados nos parâmetros de utilização do laser.

A remoção do *smear layer* pela irradiação com laser Nd: YAG e CO₂ foi constatada por Gutknecht e Behrens (1983) e Tani e Kawada (1987), visto que Tani e Kawada (1987) mostraram que o *smear plug* presente nos túbulos dentinários pode se derreter, obliterando-os.

Ainda considerando o mesmo estudo, Gutknecht e Behrens (1983) afirmaram que a remoção do magma dentinário e a obliteração dos túbulos é completamente realizada nos parâmetros 15 Hz e 30 W com o laser ND: YAG, enquanto que Goodis

et al., em 1992, provaram que quanto maior a freqüência e o diâmetro da sonda menor a permeabilidade dentinária.

Estudos com infiltração de corante para avaliar a efetividade da aplicação do laser na redução da permeabilidade dentinária também são bastante usados. Al-Azzawi e Dayem (2006), Aranha et al. (2005), Gekelman, Prokopowitsch e Eduardo (2002), Meserendino, Levy e Rizoio (1995), Oliveira et al. (2004), Silva (2000) e Zapletalová et al. (2007) mostraram que houve menor infiltração de corante nos dentes tratados com laser de Nd: YAG.

Anic, Tachibana e Masumoto (1996) utilizou o corante azul-de-metileno para marcar a permeabilidade e demonstrou que apenas no terço apical houve redução da permeabilidade, nos terços cervical e médio a permeabilidade aumentou. Um ano antes que Anic, Tachibana e Masumoto (1996), Lage-Marques, Eduardo e Matsumoto (1995) já havia mostrado que o melhor parâmetro do laser Nd: YAG para diminuir a permeabilidade dentinária apical foi de 1 W, 20 Hz por 10 s, enquanto que na parede do canal radicular foi de 2,25 W, 20 Hz por 20 s. Anic, Tachibana e Masumoto (1996) reforçou, com seu estudo de infiltração com corante, de que os parâmetros utilizados no terço apical e dentina radicular não podem ser os mesmos. Em 2002, Gekelman, Prokopowitsch e Eduardo utilizaram o laser Nd: YAG nos parâmetros 1 W, 10 Hz por 3 s no terço apical e também encontraram menor infiltração de corante nessa região com tal parâmetro.

Diferentes tipos de laser de alta intensidade foram estudados para comparar qual age melhor na diminuição da permeabilidade, laser de CO₂, Er: YAG e Nd: YAG, sendo os melhores resultados relativos ao laser de Nd: YAG com diferentes parâmetros (ANIC; TACHIBANA; MASUMOTO, 1996; ARANHA, 2005; TALGE-CARVALHO et al., 2002).

A microscopia eletrônica de varredura é uma grande aliada para os estudos de permeabilidade dentinária decorrente da aplicação de irradiação laser. Pois é por meio dessa observação ampliada e detalhada que boa parte dos estudos envolvendo ablação dentinária, ausência de *debris* e magma, presença de fusão e recristalização são realizados. Todos os autores citados, quando não utilizaram infiltração por corante, utilizavam esse recurso para análise de resultados e observação, incluindo Arisu et al. (2004), Lee et al. (2002) e Santos et al. (2005).

Assim valendo-se dessa tecnologia, os autores mostraram que o uso do laser diminui a permeabilidade dentinária pela modificação estrutural dos tecidos dentais.

Tendo em vista a problemática da permeabilidade dentinária após o tratamento endodôntico, a proposta do presente estudo foi avaliar qual material aplicado sobre a região de furca de molares inferiores poderia melhor impermeabilizar se houvesse uma exposição dessa área ao meio bucal. A associação de irradiação laser de alta intensidade foi feita em função das inúmeras pesquisas demonstrando seu potencial como redutor da permeabilidade da dentina.

É bastante comum na prática clínica o paciente não buscar o tratamento restaurador imediatamente após a conclusão da terapia endodôntica. Desse modo, o selamento temporário pode fraturar-se ou até mesmo romper completamente, expondo a região da furca ao meio bucal. De outra parte, findo o tratamento endodôntico nem sempre é possível conduzir as manobras de restauração final do dente sob isolamento absoluto e, estando a permeabilidade dentinária da região de furca ampliada dada a ação das substâncias químicas auxiliares, torna-se a dentina da região presa fácil à contaminação ou recontaminação bacteriana.

As amostras do grupo controle positivo, simularam a situação em que o dente apresenta a furca exposta ao meio bucal, tendo esse dente recebido (controle

positivo final) ou não (controle positivo inicial) o tratamento endodôntico. Todos os espécimes foram infiltrados em 2 dias, demonstrando ser a furca uma via fácil ao indesejável ingresso bacteriano. A presença de canais acessórios ou foraminas nessa região já foi descrita por Gutmann (1978), por Koenigs, Brilliant e Foreman (1974), Vertucci e Willians (1974), Perlich, Reader e Foreman (1981) e Prada et al. (1994), entre outros. A passagem bacteriana em tão curto espaço de tempo é preocupante ao clínico e reforça a necessidade do tratamento restaurador no mais breve espaço de tempo. Comprovadamente, o ingresso de microrganismos para o interior da dentina pode contribuir negativamente em relação ao bom andamento do processo reparacional (NAIR, 2004).

Na tentativa de buscar um agente selador para essa área tão crítica do órgão dental, muitos materiais já foram recomendados. Apesar do cimento endodôntico AH Plus apresentar propriedades adesivas com comportamento superior a outros cimentos de uso na Endodontia (MARTINS, 2000; PEREIRA et al., 2007), os resultados nesta pesquisa não foram animadores, visto que no 6º dia, 70% das amostras mostravam-se infiltradas pelo microrganismo-teste e no 11º dia, todos os espécimes apresentaram turvação do meio de cultura na câmara inferior (tabela 5.1 e figura 5.1). Mesmo quando associado ao laser de alta potência, o cimento AH Plus não foi capaz de impermeabilizar a furca de molares tratados endodonticamente, tendo 100% das amostras infiltradas no 4º dia de observação, delineando-se como o pior resultado do experimento. Pelos resultados obtidos, podemos inferir que não houve ação sinérgica entre material (AH Plus) e técnica (laser de alta potência), constituindo esta prática algo insuficiente para a resolução dessa questão.

O laser de Nd:YAG por apresentar ação de ablação, fusão e recristalização dos tecidos mineralizados (ANIC; TACHIBANA; MASUMOTO, 1996; ARISU et al.,

2004; GEKELMAN; PROKOPOWITSCH; EDUARDO, 2002; GUTKNECHT; BEHRENS, 1991; LAGE-MARQUES; EDUARDO; MATSUMOTO, 1995; MESERENDINO; LEVY; RIZOIU, 1995; SILVA, 2000; TANI; KAWADA, 1987; ZAPLETALOVÁ et al., 2007) foi empregado neste estudo com a finalidade de diminuir a permeabilidade dentinária na furca, porém 90% das amostras foram infiltradas até o 6º dia (tabela 5.1 e figura 5.1).

Lage-Marques, Conti e Antoniazzi (1992) obtiveram excelentes resultados com o uso do isobutil cianoacrilato aplicado em furca. Na presente pesquisa, os melhores resultados também foram obtidos quando da aplicação do cianoacrilato de etila.

Os resultados do presente estudo mostraram que o grupo GII, impermeabilizado pelo cianoacrilato de etila, foi o que melhor impermeabilizou a região de furca, seguido dos grupos GI (impermeabilizado com AH Plus) e GII associado (impermeabilizado com laser Nd: YAG + cianoacrilato de etila).

Além do AH Plus e do cianoacrilato de etila, foi usado também neste estudo a irradiação do laser Nd:YAG, que diminui a permeabilidade dentinária quando de sua utilização. Os resultados obtidos com os grupos irradiados pelo laser Nd:YAG, associados ou não, levaram a concluir que, neste caso, o cianoacrilato de etila e o cimento AH Plus possuem melhor poder de impermeabilizar a região de furca do que a aplicação do laser de alta potência, Nd:YAG. Tendo em vista que no quarto dia de observação todas as amostras do grupo GI associado (impermeabilizado com laser Nd: YAG + AH Plus) apresentaram microinfiltração. O grupo GIII (impermeabilizado com laser Nd: YAG) apresentou 100 % das amostras infiltradas no sexto dia de observação experimental. Já o grupo GII associado (impermeabilizado com laser Nd:YAG + cianoacrilato de etila) apresentou 20 % das amostras infiltradas no quarto

dia, passando para 25 % no sexto dia, completando 100 % no décimo primeiro dia de observação, o que nos leva a concluir que o cianoacrilato de etila associado a irradiação do laser ND:YAG pode ter diminuído a permeabilidade dentinária na região de furca, sem no entanto representar isso uma solução totalmente segura.

Em vista dos resultados obtidos nas condições deste experimento é recomendável que novos estudos venham a ser desenvolvidos a fim de se buscar uma alternativa prática e segura de obtenção da impermeabilização da dentina que remanescer exposta ao tratamento endodôntico

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, é lícito afirmar que:

1. A região da furca quando exposta, representa uma importante via de ingresso microbiano.
2. A permeabilidade dentinária na região da furca não foi influenciada pela ação das substâncias químicas empregadas durante o preparo dos canais radiculares.
3. O cianoacrilato de etila foi o material que melhor impermeabilizou a região de furca.
4. O uso de laser de Nd:YAG em nada contribuiu para melhoria da impermeabilização na furca de molares humanos tratados endodonticamente.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS¹

Abreu GR. Avaliação *in vitro* da influência do tetrafluoreto de titânio 4% no condicionamento da superfície dentinária radicular. 1999. Sbpqo. Iniciação Científica (FAPESP). Universidade de São Paulo.

Akpata ES, Blechman H. Bacterial invasion of pulp dentin wall *in vitro*. J Dent Res 1982;61(2):435-8.

Al-Azzami LM, Dayem RN. A comparison between the occluding effects of the Nd:YAG laser and the desensitising agent sensodyne on permeation through exposed dentinal tubules of endodontically treated teeth: An *in vitro* study. Arch Oral Biol 2006;51:535-40.

Anic I, Tachibana H, Masumoto K. Permeability, morphologic and temperature changes of canal dentine walls induced by Nd: YAG, CO2 and argon lasers. Int Endod J 1996;(29):13-22.

Ando N, Hoshino N. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers root canal dentine. Int Endod J 1990;(23)1:20-7.

Araki AT. O emprego de radioisótopo na avaliação da permeabilidade dentinária intracanal tendo como variáveis as soluções irrigadoras e a irradiação com diferentes lasers [Tese de Doutorado]: São Paulo. Faculdade de Odontologia da USP; 2007.

Aranha ACC, Domingues FB, Franco VO, Gutknecht N, Eduardo CP. Effects of Er:YAG and Nd:YAG Lasers on Dentin Permeability in Root Surfaces: A Preliminary *in Vitro* Study. Photomedicine Laser Surg 2005;23(5):504-8.

Arisu HD, Bala O, Alimzhanova G, Türköz E. Assessment of morphological changes and permeability of apical dentin surfaces induced by Nd:YAG laser irradiation trough retrograde cavity surfaces. J Contemp Dent Pract 2004;5(2):1-9.

Aun C, Brugnera A, Villa RG. Avaliação clínica de pacientes portadores de hipersensibilidade dentinária cujos dentes foram tratados com raio laser He-Ne. Rev Assoc Paul Cir Dent 1989;43(2):65-89.

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

Bonifácio KC, Leonardo MR, Rossi MA, Silva IA, Ito IY. MEV – Avaliação do ápice radicular de dentes de humanos com e sem vitalidade pulpar. SBPqO. 2000;87 (Resumo n. A217).

Brugnera-Júnior A, Cruz FM, Zanin F, Pécora JD. Clinical results avaluation of dentinary hypersensitivity patients treated with lasertherapy. Progress in Biomedical Optics – SPIE 1999;3593(1):66-8.

Brugnera-Júnior A. Estudo da ação dos lasers Er:YAG E Nd:YAG sobre a permeabilidade da dentina das paredes dos canais radiculares instrumentados [Tese de Doutorado] Rio de Janeiro:Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2001.

Brzozowski ME. Influência da aplicação do tetrafluoreto de titânio na permeabilidade dentinária do sistema endodôntico [Tese de Doutorado].São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP;2002.

Cardoso MG. Avaliação *in vitro* da influência de tetrafluoreto de titânio a 4 % na permeabilidade dentinária pós-preparo para retentor intra radicular [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP;2000.

Cipelli SR, Bombana AC, Antoniazzi JH. Avaliação *in vitro*, após preparo para retentor intra-radicular, da impermeabilização da dentina diante da aplicação de produtos diversos. Rev Pós Grad da USP 1995;25(5):16-21.

Costa WF, Costa A, Antoniazzi JH. Estudo *in vitro* da ação impermeabilizante e o apécto radiográfico do ferrocianeto de prata no tratamento endodôntico de canais radiculares. Rev Assoc Paul Cir Dent 1976;30(1):35-42.

Costa SG, Costa WF, Antoniazzi JH. Avaliação *in vitro* da ação impermeabilizante de alguns vernizes e substâncias químicas aplicados nas paredes dentinárias e no remanescente da obturação do canal após preparo para retentores intra-radiculares. Rev Assoc Paul Cir Dent 1985;39(2):94-106.

Dederich DN, Zakariesen KL, Tulip J. Scanning electronmicroscopic analysis of canal wall dentin following neodymium-yttrium-aluminum-garnet laser irradiation. J Endod 1984;10(9):428-31.

Engström B. The significance of enterococci in root canal treatment. Odontol Rev 1964;15(2):87-106.

Ferreira MB. Avaliação da permeabilidade dentinária dos canais radiculares utilizando gel e creme Endo PTC como substâncias químicas auxiliares. RPG Rev Pós-Grad 2005;12(1):32-7.

Garberoglio R, Brannström M. Scanning electron microscopic investigation of human dental tubules. Arch Oral Biol 1976;21(6):355-62.

Gekelman D, Prokopowitsch I, Eduardo CP. *In vitro* study of the effects of Nd:YAG laser irradiation on the apical sealing of endodontic fillings performed with and without dentin plugs. J Clin Laser Med Surg 2002;20(3):117-21.

Gutman JL. Prevalence, location and patency of accessory canals in the furcation region of permanent molars. J Periodont 1978;49(1):21-6.

Gutknecht N, Behrens VG. The Nd: YAG laser as na aid to root canal obturation. In:79th Annual World Dental Congresso f FDI;1991;Milan. Milan:FDI; 1991:1/275-80.

Haapasalo MPP, Ranta H, Ranta KT. Facultative gram-negative enteric rods in persistent periapical infections. Acta Odontol Scand 1983;41(1):19-22.

Haapasalo MPP; Ørstavik D. *In vitro* infection and disinfection of dentinal tubules. J Dent Res 1987;66(8):1375-1379.

Hibst R, Keller U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances. II Light microscopic an SEM investigation. Lasers Surg Med 1989;9:345-51.

Javan A, Bennett WR, Herriot DR. Population inversion and continuous optical maser oscillation in gas discharge containing a HeNe mixture. Physiol Rev 1961;6:106-10.

Johnson LF. Optical maser characteristics of rare-earth ions in crystals. J Appl Physiol 1961;34:897-909.

Takehashi S, Stanley HR, Fitzgerald W. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ free and conventional laboratory rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1965; 20:340-8.

Kantz WE, Henry CA. Isolation and classification of anaerobic bacteria from intact chambers of non-vital teeth in man. Arch Oral Biol 1974;19(1):91-6.

Kazemi RH, Sem BH, Spangberg LSW. Permeability chances of dentin treated with titanium tetrafluoride. *J Dent* 1999;27(7):531-8.

Koenings JF, Brilliant JD, Foreman DW. Preliminary scanning electron microscope investigations of accessory foramina in the furcation areas of human molar teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974;38(5):773-82.

Koutsi V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent* 1994;16(1):29-35.

Lage-Marques JL, Conti R, Antoniazzi JH. The use of Histoacryl in Endodontics. *Braz Dent J* 1992;3(2):95-8.

Lage-Marques JL, Eduardo CP, Matsumoto K. A study on morphological changes of the root canal walls lased by pulsed Nd:YAG laser. *Japan Endo Assoc* 1995; 16(1):64-9.

Lauretti MB. Avaliação comparativa *in vitro* da permeabilidade dentinária da área da bifurcação de dentes molares inferiores humanos diante do uso de substâncias químicas auxiliares e da proteção do assoalho da câmara pulpar com verniz do tipo copal [Dissertação de Mestrado] São Paulo: Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde do Instituto Metodista de Ensino Superior da Federação de Escolas Superiores do ABC; 1996.

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.

Lee BS, Lin CP, Lin FH, Lan WH. Ultrastructural changes of human dentin after irradiation by Nd:YAG Laser. *Lasers Surg Med* 2002;30:246-52.

Leonardo MR. Materiais obturadores de canais radiculares. *In: Endodontia. Tratamento de canais radiculares. Princípios técnicos e biológicos.* São Paulo: Ed. Belas Artes;2005. 2v.

Maroli S, Khera SC, Krell KV. Regional variation in permeability of young dentin. *Oper Dent* 1992;17(3):93-100.

Martins JFM. Impermeabilização da dentina do assoalho da câmara pulpar e da dentina radicular *in vivo* pelo emprego do cimento endodôntico AH-Plus [Dissertação de Mestrado] São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2000.

Miller WD. An introduction to the study of bacteriopathology of the dental pulp. *Dent Cosmos* 1984;36:505-28.

Meserendino LJ, Levy GC, Rizoio M. Effects of Nd:YAG Laser on the Permeability of Root Canal Wall Dentin. *J Endod* 1995;21(2):83-7.

Mjör IA. Human Coronal Dentine: Structure and Reaction. *Oral Surg* 1972;37(5):810-23.

Monteiro PG, Bombana AC, Santos M, Zaragoza RA. Análise da limpeza dentinária em canais radiculares preparados com um sistema rotatório e diferentes substâncias químicas. *RGO* 2008;56(1):7-15.

Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15(6): 348-81.

Nunes VH, Silva RG, Alfredo E, Sousa-Neto MD, Silva-Sousa YTC. Adhesion of Epiphany and AH Plus sealers to human root dentin treated with different solutions. *Braz Dent J* 2008;19(1):46-50.

Oliveira RG, Gouw-Soares S, Baldochi SL, Eduardo CP. Scanning Electron Microscopy (SEM) and Optical Microscopy: Effects of Er:YAG and Nd:YAG Lasers on Apical Seals after Apicoectomy and Retrofill. *Photomed Laser Surg* 2004;22(6):533-6.

Paslhey DH, Livingston, MJ. Effecte of molecular size on permeability coefficients in human dentine. *Arch Oral Biol* 1978;23(5):391-5.

Patel CKN, Mac Farlane RA, Faust WL. Selective excitation transfer and optical maser action in N₂-CO₂. *Physiol Rev* 1964;13:617-9.

Pécora JD, Brugnera Júnior A, Cussioli AL, Zanin F, Silva R. Evaluation of dentin root canal permeability after instrumentation and Er:YAG laser application. *Laser Surg Med* 2000;26:277-81.

Pereira CC, Oliveira EPM, Gomes MS, Della-Bona A, Kopper PMP, Figueiredo JAP. Comparative *in vivo* analysis of the sealing ability of three endodontic sealers in dog teeth after post-space preparation. *Aust Endont J* 2007;33(3):101-6.

Perlich MA, Reader A, Foreman DW. A scanning electron microscopic investigation of accessory foramens on the pulpal floor of humans molars. *J Endod* 1981;7(9):402-6.

Prada CG, Watanabe IS, Konig Junior B, Antoniazzi JH. Avaliação da ocorrência de canais acessórios na furca e no terço cervical radicular de molares humanos: estudo dos forames em microscópio eletrônico de varredura. *Rev Odont USP* 1994;8(2):131-6.

Raldi DP. Estudo 'in vitro' dos efeitos da interação de substâncias irrigantes, medicação intracanal e laser Er:YAG na permeabilidade dentinária do sistema endodôntico. *Pesq Odont Bras* 2003;17(3):278-85.

Sánchez DP. Avaliação *in vitro* da permeabilidade dentinária radicular após medicação intracanal com hidróxido de cálcio, tendo como fonte de variação as soluções irrigadoras. 1999. Sbpqo. Iniciação Científica (FAPESP) Universidade de São Paulo.

Santos C, Sousa-Neto MD, Alfredo E, Guerisoli DMZ, Pecora JD, Lia RFC. Morphologic evaluation of the radicular dentine irradiated with Nd:YAG laser under different parameters and angles of incidence. *Photomed Laser Surg* 2005;23(6):590-5.

Schaller HG, Weihing T, Stub JR. Permeability of dentine after Nd:YAG laser treatment. An *in vitro* study. *J Oral Rehabil* 1997;24(4):274-81.

Sen BH, Piskin B, Demirchi T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Endod Dent Traumatol* 1995;11(1):6-9.

Sen BH, Buyukyilmaz T. The effect of 4% titanium tetrafluoride solution on root canal walls – A preliminary investigation. *J Endod* 1998;24(4):239-47.

Shovelton DS. The presence and distribution of Micro organisms within non-vital teeth. *Brit Dent J* 1964;17(3):101-7.

Silva LX. Avaliação *in vitro* do efeito da irradiação do laser Nd:YAG na permeabilidade dentinária, após o preparo do canal radicular, tendo como fonte de variação a substância química auxiliar [Dissertação de Mestrado] São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2000.

Souza JIL. Análise *in vitro* da eficácia da impermeabilização da dentina radicular com verniz tipo copal, em dentes obturados com os cimentos N-Rickert e Sealer-26 e preparados para retentor intra-radicular, empregando método de infiltração e quantificação do nível de endotoxina [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2000.

Souza SFC. Cimentos resinosos endodônticos: selamento apical, aspectos micromorfológicos, características físicas e resistência de união à dentina [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.

Stabhözl A, Khayat A, Ravanshad SH, McCarthy DW, Neev J, Torabinejad M. Effects of Nd:YAG laser on apical seal of teeth after apicoectomy and retrofill. J Endod 1992; 18:371-5.

Stern RH, Sogannaes RF. Laser beam on dental hard tissues. J Dent Res 1964;43: 987.

Sundqvist G. Bacteriology studies of necrotic pulps [Tese de Doutorado] University Sweden; 1976.

Talge-Carvalho CA, Valera MC, Gown-Soares S, Eduardo CP. Effects of Nd:YAG laser and Er:YAG laser on the sealing of root canal fillings. J Clin Laser Med Surg 2002;20(4):215-9.

Tani Y, Kawada H. Effects of laser irradiation on dentin.1. Effect on smear layer. Dent Mater 1987;6:127-34.

Wu MK, Moorer WR, Wesselink PR. Capacity of anaerobic bacteria enclosed in a simulated root canal to induce inflammation. Int Endod J 1989;22(6):269-77.

Vertucci FJ, Williams RG. Furcation canals in the human mandibular first molar. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1974;38(2):308-14.

Zapletalová ZK, Perina Jr J, Novotny R, Chmelícková H. Suitable Conditions for Sealing of Open Dentinal Tubules Using a Pulsed Nd:YAG Laser. *Photomed Laser Surg* 2007;25(6):495-9.

Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006;32(5): 389-98.

Anexo A - Comitê de aprovação



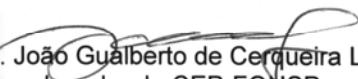
Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia
Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER DE APROVAÇÃO
FR - 219132
Protocolo 103/2008

O grupo de trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa "**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA IN VITRO DA CAPACIDADE SELADORA DE DIFERENTES MATERIAIS, ASSOCIADO OU NÃO AO LASER, NA REGIÃO DE FURCA DE MOLARES HUMANOS**", de responsabilidade do(a) pesquisador(a) **ANDREZA GAROFALO IZAIAS**, sob orientação do(a) Prof(a). Dr(a). **ANTONIO 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, 13 de outubro de 2008.


Prof. Dr. João Guálberto de Cerqueira Luz
Coordenador do CEP-FOUSP

ANEXO B – Tryptic Soy Broth (TSB)

Misturar 30 gramas do pó de TSB para 1 litro de água destilada.

Colocar o caldo na autoclave à temperatura de 121 °C por 15 minutos.

ANEXO C – Tryptic Soy Agar (TSA)

Misturar 40 gramas do pó de TSA para 1 litro de água destilada.

Colocar o caldo na autoclave à temperatura de 121 °C por 15 minutos.

Após retirar da autoclave despejar o caldo em placas de Petri, tampar e vedar as placas e colocá-las na geladeira. Esse procedimento deverá ser realizado em ambiente livre de contaminação.