

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

THAIS VIEIRA RIZZO NUNES DA CUNHA

**Infiltração bacteriana em canais radiculares obturados com diferentes
cimentos endodônticos e duas técnicas obturadoras**

BAURU
2011

THAIS VIEIRA RIZZO NUNES DA CUNHA

**Infiltração bacteriana em canais radiculares obturados com diferentes
cimentos endodônticos e duas técnicas obturadoras**

Dissertação apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Ivaldo Gomes de Moraes

Versão Corrigida

BAURU
2011

C914i Cunha, Thais Vieira Rizzo Nunes da
Infiltração bacteriana em canais radiculares
obturados com diferentes cimentos endodônticos e
duas técnicas obturadoras. / Thais Vieira Rizzo
Nunes da Cunha. – Bauru, 2011.
117 p. : il. ; 30cm.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de
Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientador: Prof. Dr. Ivaldo Gomes de Moraes

Nota: A versão original desta dissertação encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru - FOB/USP.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº: 111/2009
Data: 27/08/2009

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

*Dedico esse trabalho ao meu esposo **Bruno Candia Nunes da Cunha** por ter caminhado ao meu lado nessa longa jornada. Muito obrigada pelo apoio e incentivo no transcorrer desse trabalho de Mestrado. Obrigada por dar valor ao conhecimento e ao saber, entendendo assim a minha ausência. Obrigada por se levantar às cinco horas da manhã para me fazer café para que eu pudesse viajar. Obrigada por me estimular e incentivar nos momentos em que pensei em desistir. Fui para os Estados Unidos para ficar ao seu lado e apoiá-lo durante o seu mestrado, hoje tenho a certeza de que nada foi em vão. Não esperava nada em troca, porém obtive o dobro. Obrigada por tudo, meu amor. E obrigada, principalmente, pela melhor coisa da minha vida, nosso filho Enzo!*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Á Deus,

por me permitir tantas coisas maravilhosas.

Por ter me proporcionado força e paciência.

por me ter dado inteligência e disciplina para a conclusão desse trabalho.

Ao meu filho Enzo,

por ter mudado minha vida para muito melhor em tão curto espaço de tempo.

Aos meus pais Gilberto e Ana Maria,

pelo apoio incondicional.

por terem me ensinado o valor da educação e do estudo.

Aos meus irmãos Mariane e Paulo Eduardo,

pela amizade e carinho.

pelos momentos de descontração.

*Ao meu mestre e orientador Prof. Dr. **Ivaldo Gomes de Moraes**,
pela bondade em compartilhar comigo sua imensa sabedoria e
experiência,
pelo privilégio de sua orientação,
pelos momentos agradáveis passados juntos desde a época da
especialização.*

***“ Um professor é a personificada consciência do aluno; confirma-o
nas suas dúvidas; explica-lhe o motivo de sua insatisfação e lhe
estimula a vontade de melhorar.”***

Thomas Mann

AGRADECIMENTOS

*Ao Prof. Dr. **Paulo Henrique Weckwert**;
pela orientação na parte microbiológica,
por me disponibilizar o seu tempo tão escasso.*

*A Prof. Dra. **Flaviana Bombarda de Andrade**;
pela enorme ajuda na leitura das lâminas,
pela elucidação das minhas dúvidas,
pelos momentos agradáveis.*

*Ao professor Dr. **Marco Antonio Hungaro Duarte**;
pela enorme paciência e auxílio durante o desenvolvimento das
pesquisas.
pela co-orientação à minha dissertação.*

*Aos professores Drs. **Clóvis Monteiro Bramante, Norberti
Bernardinelli e Roberto Brandão Garcia**;
pela solicitude.
pelo conhecimento compartilhado.*

*Aos funcionários do Departamento de Endodontia: **Edimauro, Neide ,
Suely, Patrícia e Cleide**;
pela agradável convivência.
Pelo enorme auxílio durante todo o curso.*

*As funcionárias do Departamento de Histologia: **Patrícia e Daniela;**
pelo apoio na realização da coloração de Brown e Brenn.*

*A funcionária do Departamento de Patologia: **Fátima;**
pela paciência e auxílio no desenvolvimento da parte histológica.*

*Ao funcionário do Departamento de Microbiologia: **André;**
pelo auxílio durante o desenvolvimento da parte microbiológica.*

*Aos novos amigos do curso de Mestrado: **Clarissa, Elaine, Marcelo,
Marina, Paloma, Raquel;**
pelos bons momentos juntos compartilhados.*

*Aos amigos desde a época da especialização: **Aldo e Bruno;**
por podermos sempre contar uns com os outros.*

*Ao amigo do Curso de Doutorado: **Ronald;**
pela amizade,
pelas boas idéias.*

*Aos meus professores de Endodontia de Campo Grande-MS: **Andréa
Melani, Cibele Zárate, Renato Marques e Rogério Becegatto**
por serem os primeiros a me mostrar a beleza da Endodontia*

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, na pessoa do Diretor, Prof. Dr. José Carlos Pereira.

À comissão de Pós Graduação da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, na pessoa do presidente, Prof. Dr. Paulo César Rodrigues Conti.

Ao coordenador do programa de Pós Graduação, na área de concentração Endodontia, Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia.

A Capes, que possibilitou, através da concessão de bolsa de estudo, o desenvolvimento desse estudo.

A PROAP, Programa de Apoio a Pós Graduação, pela disponibilização dos materiais utilizados nessa pesquisa.

“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual o seu futuro trabalho pertencer”.

Albert Einstein

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar *ex vivo* a infiltração do *Enterococcus faecalis* em canais radiculares obturados com os cimentos endodônticos AHPlus, RealSeal e o cimento experimental Sealepox, pelas técnicas da condensação lateral e compactação vertical. Cem dentes humanos unirradiculados, com canais únicos e retos, tiveram os mesmos instrumentados, e após, as coroas removidas, para a realização das obturações. Aparatos específicos para a fixação das raízes foram confeccionados contendo meio de cultura estéril e específico para a bactéria, em questão. A inoculação de *Enterococcus faecalis* foi realizada e, durante 60 dias, o meio de cultura foi checado diariamente para constatar sua possível turvação, o que, caracterizaria a passagem bacteriana pela obturação. Todos os espécimes foram processados histologicamente e corados pela técnica de Brown e Brenn para exame em microscópio óptico, para constatação da presença e localização do *Enterococcus faecalis* no interior dos canais radiculares e na massa dentinária. Considerando a metodologia da infiltração bacteriana, os resultados obtidos mostraram que nem os cimentos obturadores e nem as técnicas foram capazes de impedir a infiltração. Contudo, a mesma ocorreu em um pequeno número de espécimes, não sendo observadas diferenças significantes entre os cimentos e técnicas. Em relação à análise microscópica, foi observada a presença dos microorganismos em, praticamente, todos os espécimes analisados. Tal observação permite afirmar que a metodologia da infiltração bacteriana não é confiável para se qualificar o selamento proporcionado por obturações de canais radiculares.

Palavras-chave: Obturação do canal radicular. Infiltração bacteriana. Cimento endodôntico.

ABSTRACT

Bacterial leakage in root canals filled with different endodontic sealers and two techniques

The aim of this study was to assess *ex-vivo* the leakage of *Enterococcus faecalis* in root canals filled with endodontic sealers AHPlus, RealSeal and the experimental sealer Sealepox, after the lateral condensation or warm vertical condensation techniques. One hundred single rooted extracted human teeth had their root canals instrumented and their crowns removed for the conducting of the obturation. An experimental bacterial leakage setup was designed for fixing the root canal in the contained media, sterile and specific for the bacteria in study. The inoculation with *Enterococcus faecalis* was conducted and for 60 days the media was checked daily for possible change in its clear aspect, which would than, characterize the contamination by the bacteria through the root canal. All the sample which were infiltrated, totally or not, were processed and colored by the Brown and Brenn technique for observation of presence and location of *Enterococcus faecalis* in the root canal or dentinal tubules. With the methodology for bacterial leakage considered, the results obtained showed that none of the sealer neither the techniques employed were able to avoid leakages. Nevertheless, leakage happened in a small number of samples, where no statistical difference could be found between sealers and techniques. In regards to the microscopy analysis, presence of microorganisms was observed in practically all the samples. Such an observation, suggests that bacterial leakage is not a trustworthy indicator for qualifying sealing obtained by sealers in root canals.

Key words: Root canal obturation. Bacterial leakage. Endodontic sealer.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1: A- Espécime sem infiltração coronária e B- Espécime com infiltração coronária, evidenciada pela turbidez do meio de cultura em contato com a porção apical do remanescente radicular.....62
- FIGURA 2: A- Constatação da desmineralização inicial do remanescente radicular. B- Seccionamento longitudinal do remanescente radicular, gerando duas hemi-partes.65
- FIGURA 3: Penetração do cimento obturador nos túbulos dentinários. Técnica da compactação vertical + cimento AH Plus. Coloração de Brown e Brenn, aumento original de 400x (figura A) e 1000x (figura B).....69
- FIGURA 4: Bactérias no interior dos túbulos dentinários – escore 4. Técnica da compactação vertical + cimento AH Plus. Coloração Brown e Brenn, aumento original de 400x (A) e 1000x (B).....69
- FIGURA 5: Penetração do cimento no interior dos túbulos dentinários, terços cervical (A) e médio (B). Técnica da condensação lateral + Sealepox. Coloração de Brown e Brenn, aumento original de 400x).71
- FIGURA 6: A- Bactérias no interior dos túbulos dentinários, terço cervical, B- terço apical. Técnica da compactação vertical + Sealepox (coloração de Brown e Brenn, aumento original de 400x).....71
- FIGURA 7: Representação gráfica (em %) do número de espécimes com presença bacteriana, nos diferentes grupos experimentais.....80
-
-

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1: Distribuição do número de raízes, de acordo com os grupos controles e experimentais, em função das técnicas e cimentos obturadores..... | 53 |
| TABELA 2: Número de espécimes por grupo, que apresentaram infiltração durante o período experimental (60 dias). | 76 |
| TABELA 3: Número total de espécimes, com ou sem infiltração, e tempo médio de infiltração (em dias), nos diferentes grupos avaliados. | 77 |
| TABELA 4: Número de espécimes com ou sem infiltração, em função do cimento obturador utilizado..... | 78 |
| TABELA 5: Número de espécimes com ou sem infiltração, em função da técnica obturadora utilizada..... | 78 |
| TABELA 6: Número de espécimes com ou sem bactérias no terço cervical e, escores médios da penetração bacteriana nos túbulos dentinários, nos diferentes grupos avaliados..... | 81 |
| TABELA 7: Número de espécimes com ou sem bactérias no terço médio e, escores médios da penetração bacteriana nos túbulos dentinários, nos diferentes grupos avaliados..... | 81 |
| TABELA 8: Número de espécimes com ou sem bactérias no terço apical e, escores médios da penetração bacteriana nos túbulos dentinários, nos diferentes grupos avaliados..... | 82 |

LISTA DE ABREVIATURA E SÍMBOLOS

| | |
|-------------|----------------------------------|
| % | porcentagem |
| x | vezes |
| ATCC | american type culture collection |
| BHI | brain heat infusion |
| cm | centímetro |
| EDTA | ácido etileno diaminotetracético |
| g | grama (s) |
| min | minuto (s) |
| mL | mililitro (s) |
| mm | milímetro |
| n° | número |
| µL | microlitro (s) |
| ® | marca registrada |
| s | segundo (s) |
| °C | grau Celsius |
| psi | unidade de pressão |
| MTA | mineral trióxido agregado |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 21 |
| 2.1 CIMENTOS OBTURADORES | 23 |
| 2.2 TÉCNICAS DE OBTURAÇÃO | 30 |
| 2.2.1 Técnica da condensação lateral | 30 |
| 2.2.2 Técnica da compactação vertical | 31 |
| 2.2.3 Condensação lateral a frio x Compactação vertical aquecida | 32 |
| 2.3 INFILTRAÇÃO CORONÁRIA | 35 |
| 2.3.1 Infiltração com corante | 36 |
| 2.3.2 Transporte de fluidos | 37 |
| 2.3.3 Infiltração com bactérias | 38 |
| 2.3.3.1 <i>Enterococcus faecalis</i> | 39 |
| 2.3.3.1.1 Características do <i>Enterococcus faecalis</i> | 39 |
| 2.3.3.1.2 Relação <i>Enterococcus faecalis</i> / infecção endodôntica | 39 |
| 2.4 ANÁLISE HISTOLÓGICA | 41 |
| 3 PROPOSIÇÃO | 43 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 47 |
| 4.1 SISTEMAS DE OBTURAÇÃO UTILIZADOS | 49 |
| 4.1.1 Sistema Elements (Sybron Endo, Orange, CA, EUA) | 49 |
| 4.1.1.1 Componentes do Sistema Elements | 49 |
| 4.1.1.1.1 System B | 49 |
| 4.1.1.1.2 Injetor de guta-percha | 49 |
| 4.2 CIMENTOS OBTURADORES | 50 |
| 4.2.1 AH Plus | 50 |
| 4.2.2 RealSeal | 50 |
| 4.2.3 Sealepox | 51 |
| 4.3 ETAPAS OPERATÓRIAS | 51 |
| 4.3.1 Seleção dos dentes | 51 |
| 4.3.2 Preparo dos canais radiculares | 52 |
| 4.3.3 Padronização do comprimento radicular | 52 |
| 4.3.4 Aplicação de EDTA e secagem dos canais radiculares | 53 |
| 4.3.5 Obturação dos canais radiculares | 53 |
| 4.3.5.1 Seleção do cone principal | 54 |
| 4.3.5.2 Preparo do cimento obturador | 54 |
| 4.3.5.2.1 AHPlus | 54 |

| | |
|---|-----------|
| 4.3.5.2.2 Real Seal..... | 54 |
| 4.3.5.2.3 Sealepox | 54 |
| 4.3.5.3 Técnicas obturadoras..... | 55 |
| 4.3.5.3.1 Condensação Lateral | 55 |
| 4.3.5.3.1.1. Grupos 1 e 5..... | 55 |
| 4.3.5.3.1.2 Grupo 3 – Cimento RealSeal..... | 55 |
| 4.3.5.3.2 Compactação Vertical | 56 |
| 4.3.5.3.2.1 Grupos 2, 4 e 6..... | 56 |
| 4.3.5.3.2.1.1 Obturação do terço apical - System B | 56 |
| 4.3.5.3.2.1.2 Obturação dos terços médio e cervical..... | 57 |
| 4.3.5.4 Radiografias finais | 57 |
| 4.3.5.5 Armazenagem dos espécimes após a obturação..... | 57 |
| 4.4. INFILTRAÇÃO BACTERIANA..... | 58 |
| 4.4.1 Impermeabilização dos remanescentes radiculares..... | 58 |
| 4.4.2 Montagem dos remanescentes radiculares em eppendorfs e esterilização dos conjuntos em óxido de etileno | 58 |
| 4.4.3 Preparo dos frascos de vidro, tipo penicilina | 59 |
| 4.4.4 Montagem do dispositivo para o teste de infiltração bacteriana..... | 59 |
| 4.4.5 Preparo do micro-organismo | 60 |
| 4.4.6 Reativação da amostra bacteriana..... | 60 |
| 4.4.7 Coloração de Gram | 60 |
| 4.4.8 Meio de cultura M-Enterococcus Agar..... | 60 |
| 4.4.9 Repique do micro-organismo | 61 |
| 4.4.10 Preparo do caldo para o teste de infiltração | 61 |
| 4.4.11 Teste de infiltração coronária | 61 |
| 4.4.12 Observação dos espécimes | 62 |
| 4.4.13 Teste de viabilidade das bactérias | 62 |
| 4.4.14 Desmontagem dos aparatos que apresentaram infiltração | 63 |
| 4.5 ANÁLISE HISTOLÓGICA..... | 63 |
| 4.5.1 Descalcificação dos remanescentes radiculares em solução de Morse | 63 |
| 4.5.2 Processamento histotécnico e inclusão dos remanescentes radiculares em blocos de parafina..... | 64 |
| 4.5.3 Microtomia e obtenção das lâminas | 65 |
| 4.5.4 Coloração de Brown e Brenn | 65 |
| 4.5.5 Leitura das lâminas | 68 |
| 5 RESULTADOS..... | 73 |
| 5.1 INFILTRAÇÃO BACTERIANA..... | 75 |
| 5.1.1 Avaliação entre todos os grupos | 75 |
| 5.1.2 Avaliação entre os cimentos..... | 77 |
| 5.1.3 Avaliação entre as técnicas..... | 78 |

| | |
|---|------------|
| 5.2 ANÁLISE HISTOLÓGICA..... | 79 |
| 5.2.1 Penetração das bactérias nos túbulos dentinários | 80 |
| 5.2.1.1 Terço cervical | 80 |
| 5.2.1.2 Terço médio | 81 |
| 5.2.1.3 Terço apical..... | 82 |
| 5.2.1.4 Comparação entre os terços cervical, médio e apical | 82 |
| 6 DISCUSSÃO | 83 |
| 6.1 Da metodologia | 85 |
| 6.1.1 Preparo dos dentes | 85 |
| 6.1.2 Infiltração bacteriana nos canais radiculares..... | 89 |
| 6.1.3 Análise histológica..... | 90 |
| 6.2 Dos resultados | 91 |
| 6.2.1 Teste de infiltração bacteriana | 91 |
| 6.2.2 Análise histológica..... | 93 |
| 6.3 Considerações finais | 94 |
| 7 CONCLUSÕES | 97 |
| REFERÊNCIAS..... | 101 |
| ANEXOS | 113 |

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

O principal objetivo do tratamento endodôntico é promover uma limpeza e um selamento hermético que impeça a infecção ou reinfecção do sistema de canais radiculares (SIQUEIRA, *et al.*, 1999).

Quando um tratamento endodôntico é realizado, um material sólido, que pode ser a guta-percha (GROSSMAN, 1958), é empregado utilizando-se técnicas obturadoras que podem ser as tradicionais, como as técnicas da compactação a frio, termoplastificadoras e termoinjetoras. Todavia, sozinho, esse material não é capaz de preencher completamente o sistema de canais radiculares.

Faz-se necessário, então, o uso de um cimento obturador, que é responsável pelas principais funções do preenchimento final do sistema de canais radiculares (ØRSTAVIK, 2005), entre elas, impedir a entrada de fluidos, ser capaz de preencher os “gaps” existentes entre o material obturador e as paredes dentinárias (GROSSMAN, 1958), promover o sepultamento de micro-organismos remanescentes, preencher áreas inacessíveis ao preparo biomecânico e, ainda, aumentar a união dos cones de guta-percha, entre si (ØRSTAVIK, 2005).

Para GROSSMAN, (1980) o cimento obturador deve ser bacteriostático, como muitos já demonstraram ser. No entanto, a maioria dos cimentos apresenta inúmeras desvantagens, entre elas, a ausência de estabilidade dimensional com o decorrer do tempo, permitindo a formação de “gaps” ou espaços vazios na interface cimento/dentina ou cimento/guta-percha. São espaços grandes o suficiente para permitirem a infiltração de micro-organismos ao longo do canal radicular (ØRSTAVIK; NORDAHL; TIBBALLS, 2001).

A infiltração apical é, ainda hoje, considerada como um dos fatores responsáveis pelo insucesso do tratamento endodôntico (HOMMEZ; COPPENS; DE MOOR, 2002), no entanto, mais recentemente, maior atenção tem sido dispensada à infiltração coronária nos canais radiculares (RAY; TROPE, 1995; HOMMEZ; COPPENS; DE MOOR, 2002).

A pergunta que se faz é: se a infiltração apical é uma das causas do insucesso do tratamento, que papel a infiltração coronária tem no prognóstico do tratamento endodôntico? Dentes fraturados e restaurações temporárias

insatisfatórias ou a ausência da restauração, colocam os canais radiculares em contato com a cavidade oral. A falta do selamento coronário permite a entrada de fluidos bucais, ocorrendo a contaminação microbiana (SWANSON; MADISON, 1987). Quando há a perda do selamento coronário, na maioria das vezes, acontece o fracasso do tratamento. Em dentes, onde se faz necessária a colocação de um núcleo para restauração, o período compreendido entre a obturação dos canais radiculares e a cimentação do núcleo, oferece inúmeras oportunidades para que ocorra a recontaminação do sistema de canais radiculares (MAVEC, *et al.*, 2006).

Para RAY; TROPE, (1995) dentes que apresentam restauração coronária adequada e tratamento endodôntico, também adequado, têm apresentado índices de sucesso significativamente maior do que dentes com restauração deficiente e tratamento endodôntico adequado mostrando, segundo esses autores, que a qualidade da restauração coronária é mais importante do que a qualidade da obturação dos canais radiculares.

Entre os micro-organismos encontrados nos casos de insucesso do tratamento, o *Enterococcus faecalis* tem sido o mais comumente identificado (SEDGLEY; LENNAN; APPELBE, 2005). São pequenos, com tamanho suficiente para invadirem e viverem no interior dos túbulos dentinários, o que pode explicar a capacidade de infiltração através da falha da restauração coronária e pelo material obturador (LOVE, 2001; STUART, *et al.*, 2006). São capazes ainda, de formar um biofilme que resiste aos mecanismos de destruição, tornando a bactéria mais resistente aos fagócitos, anticorpos e antimicrobianos, além de serem capazes de impedir a ação de linfócitos contribuindo, assim, para a falha do tratamento (STUART, *et al.*, 2006).

O selamento dos canais radiculares pode ser avaliado de diferentes formas, sendo a penetração bacteriana a mais aceita atualmente. Diversos autores (TIMPAWAT; AMORNCHAT; TRISUWAN, 2001; YÜCEL, *et al.*, 2006; BAUMGARTNER; ZEHNDER; PAQUÉ, 2007) utilizaram o *Enterococcus faecalis* como micro-organismo rastreador, pelas seguintes razões: é um patógeno altamente associado a casos de periodontite apical persistente em dentes com tratamento endodôntico prévio; é de fácil cultivo, com crescimento rápido, além de ter sido amplamente utilizado em estudos dessa natureza (PADACHEY, *et al.*, 2000).

Baseando-se no fato de que, infelizmente, a restauração coronária nem sempre exerce a sua função, adequadamente, ou não é realizada em tempo hábil

após a obturação dos canais e que, o impedimento da infiltração bacteriana, principalmente do *Enterococcus faecalis* ao longo da obturação, por um período maior possível, está na dependência da qualidade da obturação e que, esta é o reflexo dos materiais e das técnicas utilizadas, torna-se interessante e oportuno avaliar o selamento, contra o *Enterococcus faecalis*, de obturações realizadas com três cimentos e duas técnicas obturadoras, ainda, muito utilizadas na atualidade endodôntica.

2 Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

O principal objetivo do tratamento endodôntico, depois de realizada a limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares, é o preenchimento completo da cavidade pulpar radicular em três dimensões (VENTURI, 2008).

A obturação dos canais radiculares é composta por um material sólido e um cimento obturador. O material sólido mais usado ao longo dos anos tem sido a gutapercha e, pode ser utilizado com técnicas de obturação a frio e a quente termoplastificadoras (SKINNER; HIMEL, 1987), ou termoinjetoras.

A associação do cimento à gutapercha é, geralmente, utilizada com o intuito de se obter o selamento apical ideal. O cimento age como lubrificante quando da inserção do cone de gutapercha, além da função principal que é servir de material preenchedor das irregularidades das paredes e ramificações dos canais radiculares. Portanto, o cimento faz-se necessário, pois, a gutapercha não apresenta a capacidade de se aderir às paredes dentinárias (POMMEL, *et al.*, 2003).

A capacidade dos cimentos endodônticos e das técnicas de obturação em preencher e selar pequenas irregularidades e ramificações do sistema de canais radiculares constitui um importante parâmetro clínico. Uma melhor adaptação do material obturador às paredes dentinárias irregulares é considerada uma importante característica dos cimentos e das técnicas de obturação (KARABUCAK, *et al.*, 2008).

2.1 CIMENTOS OBTURADORES

Os cimentos endodônticos são responsáveis pelas principais funções da obturação do sistema de canais radiculares: selamento hermético, sepultamento das bactérias remanescentes e preenchimento das irregularidades do canal preparado (ØRSTAVIK, 2005). Preenchem a interface entre o cone e as paredes dentinárias, os espaços vazios entre os cones, além dos canais acessórios (SKINNER; HIMEL, 1987).

Ao longo dos anos, tem havido uma procura incessante por um cimento endodôntico que propicie selamento, possua boa radiopacidade; tempo de presa e

solubilidade adequados, além de propriedades biológicas ideais (HOLLAND; DE SOUZA, 1985).

Atualmente, há um grande número de cimentos obturadores com diferentes composições químicas disponíveis no mercado: óxido de zinco e eugenol, ionômero de vidro, resina, silicone, além dos cimentos com hidróxido de cálcio (ØRSTAVIK, 2005). Mais recentemente foram introduzidos cimentos que contêm MTA.

A capacidade seladora é a principal propriedade de um cimento, porém, não existem testes standardizados para esse fim. A solubilidade, espessura do material e alterações dimensionais após a presa são propriedades que indicam indiretamente sua capacidade seladora (SALZ, *et al.*, 2009).

O AH Plus (Dentsply De Trey, Konstanz, Alemanha) é um cimento à base de resina epóxi/amina, sendo uma modificação melhorada do seu precursor AH 26. Pode ser associado à guta-percha na técnica de obturação pela condensação vertical ou lateral (ØRSTAVIK; NORDAHL; TIBBALLS, 2001). Para LEE, *et al.*, (2002) os cimentos à base de resina (AH Plus e AH 26) mostraram uma maior capacidade de adesão à dentina do que os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, ionômero de vidro e com hidróxido de cálcio.

O cimento experimental Sealepox é um cimento epóxico desenvolvido na Disciplina de Endodontia da FOB-USP pelo Prof. Dr. Ivaldo Gomes de Moraes. Em 1984, Moraes iniciou a formulação de um cimento endodôntico, baseando-se no cimento AH26. Inicialmente realizou testes de alteração de cor, textura, volume, radiopacidade, consistência e tempo de presa do cimento AH26 e de outras formulações, testando novos radiopacificadores, resina epóxica tipo bisfenol A e seus respectivos endurecedores. Como resultados destes testes, chegou-se a 4 formulações para que fossem comparadas com outros materiais obturadores, como os cimentos AH26, AH26 acrescido de hidróxido de cálcio, óxido de zinco e eugenol, além de guta-perchas de diferentes procedências.

Tem em sua composição o hidróxido de cálcio, sendo uma modificação do antigo MBP, do qual alguns componentes foram substituídos, porém, mantendo-se as mesmas características, propriedades físicas, indicações e apresentação na forma pasta/pasta (VIVAN, 2009). Este cimento é apresentado na forma pasta/pasta e em duas versões; sendo uma indicada para a obturação de canais radiculares (Sealepox) e a outra para ser usada no selamento de perfurações e em obturações retrógradas (Sealepox RP). As substâncias que compõem as duas versões são as

mesmas, variando-se apenas a proporção entre os pós e os líquidos que proporciona uma consistência ideal para obturação de canais no Sealepox, e uma consistência mais espessa, menos fluida, no Sealepox RP.

Em 2004, houve a introdução do polímero sintético e resina dual no mercado, com o nome comercial de Epiphany (Pentron Clinical Technologies, Wallingford, CT, EUA) ou Real Seal (SybronEndo, Orange, CA, EUA) com a intenção de substituir a guta-percha e os cimentos obturadores convencionais, até então, utilizados, visando superar suas desvantagens, mostrando propriedades de selamento similares a dos materiais tradicionais (MUÑOZ, *et al.*, 2007).

Para os fabricantes, a utilização do adesivo e resina dual para obturação dos canais radiculares e os cones resinosos, criaria o que chamaram de “monobloco”, promovendo selamento superior quando comparado à guta-percha associada a cimentos obturadores convencionais. Supostamente, o cone unir-se-ia ao cimento e este às paredes do canal radicular. Se realmente ocorresse a formação de um completo e estável monobloco, este promoveria um selamento apical total, o que até hoje não foi comprovado cientificamente (WILLIAMSON, *et al.*, 2009).

TIMPAWAT; AMORNCHAT; TRISUWAN, (2001), compararam a infiltração bacteriana do *Enterococcus faecalis* em canais radiculares obturados com diferentes cimentos endodônticos para determinar o tempo necessário para a bactéria penetrar da região cervical até a porção apical da raiz. As raízes tiveram os canais instrumentados, divididos em três grupos de acordo com o cimento obturador utilizado: AH Plus, Ketac-Endo ou Apexit e, obturados pela técnica da condensação lateral. Após 24 horas os dentes foram anexados a tubos de micro centrifuga e os 2 mm apicais finais foram colocados em contato com meio de cultura estéril contido em frascos de vidro. A porção cervical das raízes foi inoculada com *Enterococcus faecalis*, realizando-se a observação diariamente por um período de 30 e 60 dias. Não houve diferença estatística entre os cimentos Ketac-Endo e AH Plus, porém, o Apexit apresentou infiltração significativamente maior no período de 30 dias. Após 60 dias não houve diferença estatística entre os cimentos Ketac-Endo e Apexit, mas este infiltrou significativamente mais do que o AH Plus. Os autores concluíram que os cimentos à base de resina epóxica apresentam melhor adaptação às paredes do canal e aos cones, sendo mais resistentes à infiltração bacteriana.

MILETIĆ, *et al.*, (2002a) avaliaram a penetração de *Candida albicans* ou uma cultura mista de bactérias *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Prevotella*

melaninogenica e *Lactobacillus acidophilus*, em canais radiculares obturados por cones de guta-percha e os cimentos AH26 ou AHPlus. Oitenta dentes foram divididos em dois grupos e tiveram os canais obturados com os cimentos citados. As raízes tiveram as superfícies externas, com exceção dos 2 mm apicais finais, impermeabilizadas com esmalte para unhas e as mesmas foram montadas em tubos de plástico, tipo eppendorf para serem acopladas a tubos de vidro contendo meio de cultura estéril. Na parte superior do aparato de infiltração foram inoculadas as culturas de bactérias citadas. Os aparatos foram observados por um período de 90 dias. A infiltração ocorreu em 47% dos espécimes, no período de 14 a 87 dias. Dos espécimes com canais obturados com o cimento AH26, 45% apresentaram infiltração bacteriana e 60% infiltração por fungo. No grupo do cimento AHPlus 50% dos casos apresentaram infiltração bacteriana e 55% por fungo. Não houve diferença estatística na infiltração ocorrida por fungo ou bactéria, nos dois grupos avaliados.

SILVA NETO; MORAES, (2003) avaliaram, *in vitro*, a capacidade seladora do MTA-Angelus, ProRoot, Super-EBA e MBP-c, quando aplicados no selamento de perfurações na região de furca de molares humanos extraídos, utilizados de forma isolada ou em associação com uma matriz de gesso Paris, aplicada no fundo do trajeto da perfuração. Oitenta e oito molares humanos, superiores e inferiores extraídos foram selecionados para esse experimento. Os dentes foram seccionados transversalmente, tendo as coroas removidas em um nível logo acima do assoalho da câmara pulpar, e as raízes logo abaixo da região de furca. A superfície externa dos dentes foi impermeabilizada e os mesmos foram perfurados com broca esférica no centro do assoalho da câmara pulpar, obtendo-se uma perfuração com 1,4mm de diâmetro. No fundo do trajeto da perfuração, aplicou-se uma matriz de gesso Paris em metade dos espécimes de cada grupo. Logo em seguida, as perfurações foram seladas com os materiais em teste e os espécimes imersos em solução aquosa de rodamina B a 0,2%. A infiltração foi analisada utilizando-se um microscópio óptico e os resultados demonstraram que o cimento MBPc, com e sem matriz, apresentou os menores índices de infiltração marginal, seguido pelo Super-EBA, apresentando diferença estatisticamente significante em relação ao Pro Root e MTA-Angelus.

SIQUEIRA, et al., (2004) avaliaram, *in vitro*, a microinfiltração bacteriana permitida por retrobturações realizadas com Pro Root[®] MTA, MTA Angelus[®] cinza, MBPc e cimento Portland. Noventa e dois dentes unirradiculados de humanos foram

aleatoriamente divididos em quatro grupos de 20 espécimes cada, além de dois grupos controle (n=6). Os dentes tiveram as coroas removidas e os canais foram instrumentados. A seguir, os espécimes foram apicectomizados, e os materiais retrobturadores inseridos em retrocavidades de 3mm de profundidade. Para impedir a passagem de bactérias por canais laterais, aplicou-se Araldite em toda a superfície radicular externa, exceto sobre a superfície apicectomizada. As raízes foram inseridas em tubos de microcentrífuga (eppendorf), fixadas com Araldite e mantidas em ambiente úmido durante 15 dias para, então, serem esterilizadas em óxido de etileno. Os conjuntos raiz-eppendorf foram montados em frascos tipo penicilina, e o *Enterococcus faecalis* inoculado dentro dos tubos eppendorf. Durante 50 dias o aparato foi mantido em estufa a 37°C ocorrendo infiltração em apenas um espécime de cada grupo experimental.

SILVA NETO (2005) avaliou, in vitro, através do método de filtração de fluido, a infiltração coronária dos cimentos endodônticos resinosos AH26, AH Plus, EndoRez e o cimento experimental MBP. Sessenta e quatro dentes pré-molares inferiores humanos tiveram suas coroas removidas, para padronização das raízes em 14mm. Os canais radiculares foram instrumentados e as raízes impermeabilizadas com duas camadas de esmalte para unhas, exceto na região do forame apical; obturados e divididos em quatro grupos de acordo com o cimento obturador utilizado. Quatro raízes foram utilizadas como controles positivo e negativo. Posteriormente, os espécimes foram mantidos em estufa por 15 dias a 37 °C e 100% de umidade. A infiltração foi mensurada pela movimentação de uma bolha de ar dentro de um capilar de vidro de 25 µl e 65 mm, conectado às raízes. As medições foram realizadas a cada 2 minutos em um intervalo de 8 minutos. A qualidade do selamento, em cada espécime, foi medida após 15, 30 e 60 dias. Com relação ao fator tempo, concluiu-se que não houve diferença no grau de infiltração aos 15 e 30 dias, apresentando uma redução estatisticamente significativa aos 60 dias. Aos 15 dias os cimentos AH Plus e MBP produziram menores médias de infiltração que os cimentos AH26 e EndoREZ. Aos 30 dias o cimento AH26 apresentou as maiores médias de infiltração quando comparado aos outros cimentos. Aos 60 dias o cimento MBP e AH Plus apresentaram as menores médias de infiltração, com diferença significativa em relação ao cimento EndoREZ.

YÜCEL, *et al.*, (2006), compararam a penetração bacteriana em canais obturados pela técnica da condensação lateral utilizando 4 diferentes cimentos. Cem

dentes humanos unirradiculados tiveram a porção coronária eliminada a 16 mm do ápice, para padronização do tamanho dos espécimes. Os canais foram instrumentados, pela técnica coroa-ápice, e divididos em 4 grupos para serem obturados com os cimentos AHPlus, AH26, Ketac-Endo e Sealapex. Os espécimes foram montados em dispositivos para a realização do teste de infiltração com *Enterococcus faecalis*. Após 30 dias de observação, 85% do grupo dos cimentos AHPlus e Ketac-Endo, 80% do grupo do cimento Sealapex e 75% do grupo do AH26 apresentaram infiltração. Após o período de 60 dias, foi observada a penetração bacteriana em 100% dos espécimes do grupo dos cimentos AHPlus, Ketac-Endo e Sealapex, enquanto o grupo do cimento AH26 apresentou 95% dos espécimes infiltrados. Não houve diferença estatística entre os diferentes cimentos testados no período de 30 ou 60 dias.

OROSCO (2007), comparou a capacidade seladora e adaptação marginal de diferentes materiais utilizados para confecção de tampões apicais, sob influência de três técnicas de obturação dos canais radiculares. Após abertura coronária e preparo biomecânico os dentes foram divididos em 4 grupos de 30 espécimes, de acordo com o material utilizado. Grupo 1 – pasta L & C; grupo 2 – MTA Angelus cinza; grupo 3 – CPM e grupo 4 – cimento MBPc . Em seguida foram divididos em 3 subgrupos, com 10 dentes cada, de acordo com a técnica obturadora utilizada: condensação lateral, híbrida de Tagger e sistema Ultrafill. Os dentes foram imersos em solução corante de Rhodamina B a 0,2%, pH 7,0 e levados à estufa a 37° C, por 48 horas. Em seguida os dentes foram desgastados longitudinalmente e o programa Image Tool 3.0 foi utilizado para avaliação da infiltração. Fotomicrografias em MEV com aumentos de 35x e 150x foram obtidas para análise da adaptação apical dos materiais. As avaliações mostraram que o cimento MBPc – antecessor do Sealepox RP – apresentou menores índices de infiltração com diferença significativa para os demais materiais. Quanto à adaptação às paredes do canal radicular o cimento CPM apresentou melhores resultados, porém, sem diferença estatística para os demais cimentos. A técnica de obturação empregada não influenciou a infiltração e adaptação marginal.

PINHEIRO, *et al.*, (2009), avaliaram por meio da infiltração bacteriana, a capacidade seladora dos cimentos AHPlus, Ehipany, Acroseal, Endofill e Polifill empregados em obturações realizadas com a técnica da condensação lateral ativa. Para tal, 100 dentes incisivos de bovinos tiveram os canais instrumentados e, então,

obturados com os cimentos escolhidos para o experimento. Os espécimes foram montados em dispositivos para a realização do teste de infiltração, utilizando-se como microorganismo rastreador o *Enterococcus faecalis*. O aparato de infiltração foi checado diariamente por um período de 64 dias. Os cimentos AHPlus e Endofill apresentaram os piores resultados, quando comparados com o cimento Polifill, que apresentou o menor índice de infiltração. Os cimentos Acroseal e Epiphany mostraram uma tendência a apresentar um comportamento intermediário, contudo, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre eles e os demais cimentos.

WILLIAMSON, *et al.*, (2009), avaliaram a capacidade dos sistemas resinosos (Resilon/Epiphany) e guta-percha/cimento, aplicados pelas técnicas da condensação lateral ou compactação vertical, de prevenir a infiltração bacteriana. Setenta incisivos superiores humanos tiveram os canais preparados, divididos em 4 grupos e obturados: grupo 1, condensação lateral/guta-percha/AHPlus; grupo 2, condensação lateral/Resilon/Epiphany; grupo 3, compactação vertical/guta-percha/AHPlus e grupo 4, compactação vertical/Resilon/Epiphany. Para o teste de infiltração utilizou-se um aparato contendo meio de cultura estéril em contato com o ápice radicular e na parte superior do aparato, em contato com a entrada dos canais radiculares, foi inoculado uma suspensão bacteriana contendo *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros* e *Enterococcus faecalis*. Os espécimes foram observados diariamente por um período de 40 dias para verificação da infiltração bacteriana pelo canal radicular que, caso ocorresse, era constatada pela turvação do meio de cultura estéril. O tempo médio para a ocorrência de infiltração total foi de 16, 15, 11 e 25 dias para os grupos 1 a 4, respectivamente, não havendo diferença estatística significativa entre os diferentes grupos.

HIRAI, *et al.*, (2010) compararam a infiltração pela técnica da filtração de fluido em canais radiculares obturados com cones de guta-percha ou Resilon associados aos cimentos AHPlus ou Epiphany. Sessenta e quatro pré-molares tiveram os canais preparados com instrumentos rotatórios ProFile até o instrumento 45/.04, divididos em 4 grupos e obturados com cones de guta-percha ou Resilon associados aos cimentos AHPlus ou Epiphany. Os espécimes foram armazenados em um ambiente com 100% de umidade, a 37°C por duas semanas. A infiltração foi quantificada pelo movimento de uma pequena bolha de ar no interior de uma micropipeta. O interior da micropipeta foi preenchido com água destilada e uma

pressão de 10 psi foi aplicada. O volume do fluido foi calculado observando-se a movimentação da bolha de ar. Houve diferença significativa entre os grupos, sendo que, o grupo dos cones de guta-percha associados ao cimento AHPlus proporcionaram um melhor selamento quando comparado aos demais grupos estudados.

2.2 TÉCNICAS DE OBTURAÇÃO

Inúmeras são as técnicas existentes para a obturação dos canais radiculares, sendo que, todas elas propõem como objetivo básico, obter o selamento hermético do sistema de canais radiculares (LEONARDO, 2005). Podem ser divididas em dois grupos básicos: condensação lateral a frio ou compactação vertical termo-aquecida (LEA, *et al.*, 2005).

2.2.1 Técnica da condensação lateral

A técnica da condensação lateral tem sido até os dias de hoje, a técnica de obturação mais utilizada pelos endodontistas (NELSON; LIEWEHR; WEST, 2000; GENÇOĞLU, 2003) por apresentar inúmeras vantagens, como a de permitir um bom controle do preenchimento (SCHILDER, 1967; LEVITAN; HIMEL; LUCKEY, 2003; LEA, *et al.*, 2005), evitar extrusão de material para os tecidos periapicais (SCHILDER, 1967), além de baixo custo (BRAYTON; DAVIS; GOLDMAN, 1973) para sua execução. Porém, apresenta baixa capacidade de promover a adaptação de material obturador às paredes dos canais (GENÇOĞLU, 2003) podendo ocorrer a presença de espaços vazios entre os cones e cimento (SCHILDER, 1967), fusão incompleta dos cones de guta-percha, dependência do cimento para preencher os canais acessórios (BRAYTON; DAVIS; GOLDMAN, 1973), além da possibilidade de induzir fratura vertical (MEISTER; LOMMEL; GERSTEIN, 1980).

Nesta técnica, um cone de guta-percha principal e vários cones acessórios, unidos por um cimento endodôntico são utilizados (VENTURI, 2008).

Na técnica clássica o cimento deve ser aplicado nas paredes do canal radicular antes da introdução do cone principal, porém, isso provoca, com certa frequência, o extravasamento de cimento (MORAES; HOLLANDA, 1985). HOLLAND (1975), recomendava que o cimento deve ser levado, juntamente com o

cone de guta-percha principal, mantendo a extremidade do mesmo sem cimento (técnica biológica controlada), devido às propriedades possivelmente irritantes do cimento e da boa tolerância tecidual à guta-percha. Há que ressaltar que nesta época a maioria dos cimentos endodônticos era composta de cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, tidos como irritantes.

A técnica da condensação lateral pode ser realizada de maneira ativa, quando são utilizados espaçadores previamente à introdução dos cones acessórios de guta-percha, ou de forma passiva quando não são utilizados espaçadores (BROSCO, 2006), isto é, os próprios cones abrem espaço para a penetração.

2.2.2 Técnica da compactação vertical

A técnica da compactação vertical aquecida foi preconizada por Schilder, em 1967. É uma técnica que utiliza a guta-percha aquecida para obturar o sistema de canais radiculares (SWEATMAN; BAUMGARTNER; SAKAGUCHI, 2001). São necessários, além da guta-percha, cimento endodôntico, lântulo, espaçadores, calcadores manuais e compactadores verticais (SCHILDER, 1967).

De acordo com a técnica de Schilder, após o assentamento do cone principal com cimento são utilizados espaçadores aquecidos na chama para promover a plastificação da guta-percha, para que seja, em seguida, condensada por instrumentos frios. Inicialmente, o canal é totalmente obturado e, em seguida, desobturado até o terço apical. A guta-percha é condensada e o mesmo procedimento é realizado no terço médio, até atingir 5 mm aquém do ápice. Após a obturação do terço apical, os terços médio e cervical são obturados com guta-percha plastificada, condensada verticalmente.

Atualmente, pode-se ainda lançar mão do aparelho System B Heating Source com a opção de compactadores com calibres diferentes (SWEATMAN; BAUMGARTNER; SAKAGUCHI, 2001) ou pluggers de diferentes conicidades, isto é, conicidades de 4%, 6%, 8%, 10% e 12% e um, com diâmetro apical de 0,5mm (LEONARDO; LEONARDO, 2009). Consiste na compactação vertical da guta-percha por ondas contínuas, onde se utiliza um cone principal bem adaptado ao canal no comprimento de trabalho, o que reduz a possibilidade de extrusão de guta-percha pelo ápice, associado à aplicação do aparelho System B a 200 °C (FLOREN, *et al.*, 1999; SWEATMAN; BAUMGARTNER; SAKAGUCHI, 2001), a uma profundidade de

3mm aquém do comprimento de trabalho (SWEATMAN; BAUMGARTNER; SAKAGUCHI, 2001). O canal é, então, preenchido com incrementos de gutapercha, com o auxílio do aparelho Obtura II, que são compactados e promovem uma obturação homogênea (JOHNSON; BOND, 1999).

A boa adaptação do cone, aliada ao benefício da compactação vertical da gutapercha aquecida, promove uma obturação completa e homogênea do sistema de canais radiculares (BOWMAN; BAUMGARTNER, 2002). Para SCHILDER, (1967) a utilização da gutapercha na sua fase plástica oferece à obturação, estabilidade dimensional, densidade à porção apical da obturação, além da obturação de canais acessórios e foraminas quando a termoplastificação da gutapercha é empregada em conjunto com a compactação vertical.

Na prática clínica, a desvantagem dessa técnica é que para o perfeito preenchimento dos canais, o comprimento de trabalho, é difícil de ser controlado. A inserção rápida do material no interior do canal pode resultar em extravasamento e, caso o material seja inserido lentamente, o preenchimento deficiente pode ocorrer (LEVITAN; HIMEL; LUCKEY, 2003). Além disso, técnicas de termoplastificação da gutapercha podem provocar um aumento da temperatura na superfície externa da raiz (ANIC; MATSUMOTO, 1995; LIPSKI, 2005) podendo causar injúrias ao cimento radicular, ligamento periodontal e osso alveolar (LIPSKI, 2005).

2.2.3 Condensação lateral a frio x Compactação vertical aquecida

BROTHMAN, (1981) comparou a eficácia do preenchimento dos canais radiculares quando do emprego de duas técnicas de obturação com gutapercha: a condensação lateral e a compactação vertical. Para isso, 50 pré-molares birradiculados tiveram os canais instrumentados e, então, divididos em dois grupos. Os canais a serem obturados pela técnica da compactação vertical foram instrumentados como preconizado por SCHILDER (1967), ou seja, canais com maior diâmetro no terço cervical e médio devido ao uso de brocas Gates Glidden. Já, os canais que seriam obturados pela condensação lateral foram instrumentados pela técnica convencional. Os dentes foram examinados visualmente e radiografias foram tomadas no sentido vestibulo-lingual. Dez avaliadores foram selecionados para, por meio da radiografia, julgar a densidade da obturação. Os dentes foram preparados para análise histológica fazendo-se cortes de 30um de espessura. Como resultado

observou-se que os canais obturados pela compactação vertical mostraram praticamente o dobro de canais laterais e acessórios, além de uma obturação mais densa. Não houve diferença estatística significativa na análise histológica, porém, a técnica da condensação lateral mostrou-se levemente superior no preenchimento do terço apical, enquanto a compactação vertical preencheu melhor o terço cervical. As duas técnicas foram eficazes no preenchimento do terço apical dos canais.

KHAYAT; LEE; TORABINEJAD, (1993) realizaram um estudo para determinar o tempo necessário para que bactérias oriundas da saliva contaminassem toda a extensão de canais radiculares obturados pelas técnicas da condensação lateral e compactação vertical. Quarenta canais radiculares foram instrumentados pela técnica step-back. Trinta e cinco canais foram obturados pela técnica da condensação lateral (n=20) ou pela compactação vertical (n=15). Cinco canais foram obturados sem cimento, servindo como controle positivo e, após a obturação, os 3 mm apicais finais de 5 dentes obturados pela técnica da condensação lateral foram impermeabilizados para servirem como controle negativo. A porção coronária dos dentes foi colocada em contato com saliva humana e o número de dias necessários para que as bactérias presentes na saliva penetrassem em toda a extensão do canal radicular foi determinado. Não houve infiltração nos canais do grupo controle negativo, enquanto os espécimes do controle positivo apresentaram infiltração total, em 48 horas. Todos os canais radiculares apresentaram recontaminação em menos de 30 dias. Não houve diferença estatística entre as duas técnicas obturadoras empregadas.

CARRATÙ, *et al.*, (2002) avaliaram o tempo requerido para que bactérias e endotoxinas penetrassem através da obturação dos canais radiculares realizadas pela técnica da compactação vertical ou da condensação lateral. Os espécimes foram expostos à saliva contaminada e a infiltração foi, então, avaliada. Após 31 dias nenhum dos espécimes apresentou penetração de endotoxinas, porém, ao contrário, todos os espécimes apresentaram contaminação por bactérias entre os dias 13 e 31 de observação.

JACOBSON, *et al.*, (2002) compararam a infiltração coronária em canais radiculares obturados por duas técnicas. Sessenta dentes unirradiculados tiveram suas coroas removidas, os canais instrumentados e divididos em 6 grupos. Os dois grupos experimentais, compostos de 20 dentes cada, tiveram os canais obturados pela técnica de Ondas Contínuas de Condensação, associando-se os aparelhos

System B e Obtura II ou pela técnica da condensação lateral. Em ambos os grupos foi utilizado o cimento Kerr Pulp Canal Sealer, sendo a extensão da obturação padronizada em 10mm. Os 20 dentes restantes foram divididos em 4 grupos controles de 5 dentes cada. No grupo 3, que serviu como controle negativo, os dentes não foram abertos ou instrumentados e, tiveram os ápices impermeabilizados. Os dentes do grupo 4 tiveram os canais acessado e instrumentados, porém, não foram obturados, servindo como controle positivo; no grupo 5 os canais foram instrumentados e obturados pela técnica de Ondas Contínuas de Condensação, porém, sem cimento e, no grupo 6 os canais foram obturados pela técnica da condensação lateral, porém, sem cimento. Os grupos 5 e 6 também serviram como controle positivo para o teste de infiltração. Após a obturação, as raízes foram esterilizadas para serem montadas no dispositivo para avaliação da infiltração. Para o teste de infiltração, o meio de cultura foi inoculado com a bactéria *Klebsiella pneumoniae*, enquanto a porção apical das raízes ficou em contato com o mesmo meio de cultura, porém, estéril. Os espécimes foram mantidos em anaerobiose e checados diariamente, durante 90 dias. Os resultados demonstraram que os canais obturados pela técnica da condensação lateral apresentaram maior índice de infiltração (75%) que os canais obturados pela técnica de Ondas Contínuas de Condensação (45%), apesar de não ter havido diferença estatisticamente significativa. Os canais não obturados com cimento apresentaram infiltração em todos os espécimes.

LEA, *et al.*, (2005) utilizaram quarenta blocos de acrílico transparente, com curvatura de 30°, que tiveram os canais artificiais instrumentados pela técnica coroa ápice com auxílio de brocas Gates Glidden e instrumento Profile .06 para comparar quantitativamente a densidade da obturação. Os blocos foram pesados e distribuídos aleatoriamente em dois grupos (A e B). Os blocos do grupo A tiveram os canais obturados pela técnica da condensação lateral e, os do grupo B, pela técnica de compactação vertical por ondas contínuas até serem completamente preenchidos. Os blocos foram novamente pesados após a obturação. Como resultado, observou-se que, os blocos com canais obturados pela técnica de compactação vertical por ondas contínuas apresentaram densidade e peso da obturação significativamente maior, quando comparados com os do grupo da condensação lateral.

PENG, *et al.*, (2007) realizaram uma revisão sistemática para avaliar a dor pós-operatória, qualidade da obturação, e ocorrência de sobre-obturação quando empregadas as técnicas de condensação lateral ou compactação vertical aquecida. Os resultados sugeriram que não existe diferença significativa entre as duas técnicas, exceto no quesito sobre-obturação, quando se constatou uma maior probabilidade de ocorrência com a técnica de compactação vertical aquecida.

PETERS; SONNTAG; PETERS, (2010) realizaram um estudo para avaliar o aspecto microscópico e radiográfico de obturações realizadas com a técnica da compactação vertical aquecida ou com a da condensação lateral, por alunos do curso de graduação. Trinta alunos foram instruídos a obturar com guta-percha e cimento, canais simulados, com curvaturas. Radiografias digitais tomadas nos sentidos méso-distal e vestibulo-lingual foram utilizadas para analisar a homogeneidade e o contato da obturação com as paredes do canal. Os blocos plásticos com os canais simulados foram seccionados para verificação da presença de vazios, com microscópio de luz. As radiografias mostraram que a chance de se obter uma obturação homogênea quando a técnica empregada foi a compactação vertical, foi três vezes maior no terço cervical, quase três vezes maior no terço médio e dez vezes maior no terço apical. No entanto, a chance de extrusão de material obturador foi cinco vezes maior quando a técnica de compactação vertical foi empregada.

2.3 INFILTRAÇÃO CORONÁRIA

Apesar da obturação do sistema de canais radiculares objetivar a prevenção do ingresso de bactérias e de seus sub-produtos, nos tecidos perirradiculares e selar os micro-organismos e irritantes que não foram totalmente removidos durante a instrumentação e irrigação, diversos estudos têm mostrado que, a infiltração coronária por bactérias ocorre em um curto período de tempo, quando há a exposição da obturação ao meio oral (YÜCEL, *et al.*, 2006)). Isto pode ocorrer devido à perda da restauração provisória ou selamento inadequado propiciado pela restauração (CARRATÙ, *et al.*, 2002).

A infiltração coronária pode ocorrer na interface material obturador e as paredes do canal ou na própria obturação, entre os cones e o cimento ou, ainda, nas

áreas onde o cimento é dissolvido pela saliva (CHAILERTVANITKUL; SAUNDERS; MACKENZIE, 1996,1997).

Diversos estudos têm sido realizados para avaliar a infiltração, entre eles a penetração de corantes (MCROBERT; LUMLEY, 1997; KARAGENÇ, *et al.*, 2006), transporte de fluidos (BIGGS, *et al.*, 2006; KARAGENÇ, *et al.*, 2006) ou penetração de bactérias (BARTHEL, *et al.*, 2001; BALTO, 2002; AL-HEZAIMI, *et al.*, 2005) e endotoxinas (ALVES; WALTON; DRAKE, 1998; CARRATÙ, *et al.*, 2002) ao longo da obturação dos canais radiculares.

2.3.1 Infiltração com corante

A infiltração coronária nos canais radiculares pode ser avaliada com o emprego de corantes, sendo que o azul de metileno (ZMENER, *et al.*, 2008) e a tinta nanquim (MCROBERT; LUMLEY, 1997; JENKINS, *et al.*, 2006; SAUÁIA, *et al.*, 2006) são os mais utilizados.

SAUÁIA, *et al.*, (2006) avaliaram a capacidade seladora de três materiais restauradores colocados na porção cervical dos canais radiculares. Oitenta molares humanos extraídos tiveram seus canais instrumentados, obturados e a porção coronária removida. Três milímetros cervicais da obturação foram removidos com auxílio de um instrumento aquecido e as raízes foram divididas em três grupos, de acordo com o material restaurador utilizado: Cavit, Vitremer ou Flow-it. Vinte dentes adicionais foram utilizados como controle. As raízes, após serem impermeabilizadas e submetidas à ciclagem térmica, foram imersas em tinta nanquim durante 5 dias e, então, diafanizadas. A infiltração do corante foi avaliada por meio de um estereomicroscópio. Os resultados demonstraram que o Cavit apresentou melhor capacidade de selamento dentre materiais restauradores utilizados.

ZMENER, *et al.*, (2008), compararam o efeito de diferentes graus de umidade – seco a molhado - do canal radicular, no selamento coronário. Os materiais obturadores utilizados foram: cones de guta-percha/Endo Rez, Resilon/Epiphany e guta-percha/cimento de Grosman. Setenta e seis dentes unirradiculados tiveram os canais instrumentados, aplicando-se EDTA a 17% para remoção da smear layer, seguido de inundação com água destilada. Os dentes foram, então, divididos em grupos para a execução dos seguintes protocolos: Grupo 1: o excesso de água destilada foi removido com pontas de papel absorvente, seguido da desidratação

com etanol a 95%; grupo 2: os canais foram secos com pontas de papel absorvente até que a última saísse completamente seca do canal radicular; grupo 3: os canais foram aspirados com auxílio de uma cânula por 5 segundos e secos com uma ponta de papel por 1 segundo; grupo 4: os canais permaneceram completamente inundados com água destilada. Os dentes foram impermeabilizados com duas camadas de esmalte para unhas, excetuando-se sua porção cervical. Após a obturação, os dentes foram imersos em azul de metileno por 7 dias. A seguir, foram incluídos em resina ortodôntica e as raízes foram seccionadas transversalmente, obtendo-se secções de 0,5mm de todo o comprimento radicular para, então, serem analisadas no estereomicroscópio. Os resultados mostraram que todos os espécimes apresentaram algum grau de infiltração, sendo o selamento afetado negativamente pelo grau de umidade presente.

2.3.2 Transporte de fluidos

Esse método foi adaptado para a endodontia por WU, *et al.*, (1993). Tem se mostrado mais sensível na detecção de vazios ao longo do canal radicular do que o teste de infiltração por corantes. É uma técnica que permite a realização de medições repetidas dos espécimes (BIGGS, *et al.*, 2006; PAQUÉ; SIRTES, 2007) por um longo período de tempo.

MILETIĆ, *et al.*, (2002b) compararam a capacidade seladora dos cimentos AH26, AHPlus, Apexit, Diaket e Ketac-Endo. Sessenta dentes unirradiculados tiveram os canais preparados pela técnica step-back com auxílio de brocas Gates Glidden e obturados pela técnica da condensação lateral. Os espécimes foram armazenados em solução salina a 37°C por um ano. A infiltração foi medida pelo movimento de uma bolha de ar no interior de um tubo de vidro conectado ao remanescente radicular. O Apexit apresentou infiltração significativamente maior quando comparado com o AHPlus e Ketac-Endo, enquanto o AH26 não apresentou diferença quando comparado com o AHPlus, Ketac-Endo ou Apexit.

BIGGS, *et al.*, (2006) compararam a capacidade seladora do Resilon/Epiphany com a da guta-percha, associada ao cimento Roth ou ao AH Plus. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em 8 grupos. No grupo 1 os canais foram obturados com Resilon/Epiphany; grupo 2: guta-percha e cimento Roth, presa por 3 semanas; grupo 3: guta-percha e cimento Roth; grupo 4: cone único

Resilon/Epiphany, grupo 5: controle positivo - cone sem cimento; grupo 6: guta-percha/AHPlus; grupo 7: guta-percha/AHPlus, porém com tempo de presa de 8 horas e grupo 8 - controle negativo, espécimes impermeabilizados com três camadas de esmalte para unhas em toda superfície radicular. A infiltração foi medida por meio da técnica do transporte de fluidos. Os resultados mostraram que, apenas o controle positivo apresentou diferença significativa quando comparado com os outros grupos experimentais. Não houve influência do tempo de presa na infiltração das obturações dos espécimes e o grupo do Resilon/Epiphany foi equivalente, mas não superior ao grupo da guta-percha/ cimentos convencionais.

PAQUÉ; SIRTES, (2007) compararam a capacidade seladora da guta-percha/AH Plus e do Resilon/Epiphany. Os canais radiculares de 90 dentes foram instrumentados e, então, obturados com guta-percha/AH Plus ou Resilon/Epiphany por meio da técnica da condensação lateral ou da compactação vertical. O material obturador foi removido dos canais restando apenas os 4mm apicais. A porção radicular dos dentes foi colocada em um cilindro de resina acrílica, sendo acoplado a um dispositivo para avaliação da infiltração pelo transporte de fluidos. A infiltração foi medida sob pressão por um período de 8 horas. A quantidade de fluido movimentada foi, então, medida e anotada. As aberturas coronárias foram seladas com CIV e os espécimes foram armazenados em solução estéril de hipoclorito de sódio a 37°C, por 16 meses. Após esse período o selamento foi removido e novamente foram testados pelo transporte de fluidos. Conclui-se que o Resilon/Epiphany apresentou maior movimentação de fluidos, a longo termo, do que a guta-percha/AH Plus.

2.3.3 Infiltração com bactérias

Para avaliar a penetração de bactérias pelo método de infiltração a porção coronária da raiz é colocada em contato com um meio de cultura inoculado com bactérias e a porção apical em contato com um meio de cultura estéril. Em seguida, as raízes são mantidas em meio adequado para a proliferação bacteriana. Quando o meio de cultura, no qual o ápice está inserido, torna-se turvo ou tem sua coloração alterada, indica a proliferação bacteriana no mesmo, evidenciando a penetração das bactérias ao longo da obturação do canal radicular. Para o teste de infiltração bacteriana é importante a utilização de micro-organismos relacionados aos dentes

que apresentam insucesso no tratamento endodôntico, possibilitando dessa forma uma maior aproximação das condições clínicas (BROSCO, 2006).

2.3.3.1 *Enterococcus faecalis*

2.3.3.1.1 Características do *Enterococcus faecalis*

O *Enterococcus faecalis* compõe parte da flora normal dos seres humanos (TIMPAWAT; AMORNCHAT; TRISUWAN, 2001; BAUMGARTNER; ZEHNDER; PAQUÉ, 2007), sendo encontrado em grandes quantidades (10^5 a 10^8 unidades formadoras de colônias por grama de fezes) no intestino, não causando danos para o hospedeiro, na maioria das circunstâncias. Estão, também, presentes nas regiões gástrica, genital e urinária e na cavidade oral, em menor número (LOVE, 2001; SIQUEIRA JÚNIOR, 2002).

São freqüentemente isolados em infecções mistas com outros microorganismos aeróbios e anaeróbios facultativos (TIMPAWAT; AMORNCHAT; TRISUWAN, 2001; BAUMGARTNER; ZEHNDER; PAQUÉ, 2007).

2.3.3.1.2 Relação *Enterococcus faecalis* / infecção endodôntica

A polpa necrótica apresenta uma flora polimicrobiana, caracterizada por uma vasta combinação de micro-organismos – de 4 a 7 espécies por canal, predominantemente anaeróbios, com uma quantidade praticamente igual de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (BAUMGARTNER; ZEHNDER; PAQUÉ, 2007).

Em contrapartida, a flora microbiana detectada em dentes com tratamento endodôntico prévio que apresentam periodontite apical, é caracterizada como uma monoinfecção, com predominância de micro-organismos Gram-positivos, com presença de bactérias anaeróbias estritas e facultativas na mesma proporção (SUNDQUIVIST, et al., 1989).

O enterococos é a bactéria mais freqüentemente isolada nesses casos (SUNDQUIVIST, 1992), sendo o *Enterococcus faecalis* o micro-organismo mais comumente encontrado em casos de fracasso do tratamento endodôntico (SUNDQUIVIST, 1992; MOLANDER, et al., 1998; PECIULIENE, et al., 2001)

Diversos estudos (YÜCEL, *et al.*, 2006; SLUTZKY-GOLDBERG, *et al.*, 2008; PINHEIRO, *et al.*, 2009; TAŞDEMİR, *et al.*, 2009) têm utilizado o *E.faecalis* como microorganismo rastreador para avaliação da infiltração.

RÔÇAS; SIQUEIRA; SANTOS, (2004) investigaram a prevalência do *Enterococcus faecalis* em infecções endodônticas e a associação da espécie com diferentes formas de doenças periapical. Para isso, coletaram amostras do conteúdo de canais radiculares não tratados portadores de lesão periapical crônica assintomática, periodontite apical aguda ou abscesso periapical agudo e, canais radiculares obturados associados a lesões periapicais crônicas assintomáticas. O DNA foi extraído das amostras para identificação da presença de *Enterococcus faecalis*, sendo observada em 7 de 21 canais associados a lesões periapicais crônicas assintomáticas; em 1 de 10 amostras associadas a periodontite apical crônica e, em 1 de 19 amostras de conteúdo purulento proveniente de abscessos periapicais agudos. A análise estatística demonstrou que o *Enterococcus faecalis* foi significativamente mais associado a casos assintomáticos do que a casos sintomáticos. O *E. Faecalis* foi detectado em 20 de 30 casos de infecção persistente após tratamento endodôntico. O resultado desse estudo indica que, o *Enterococcus faecalis* é, significativamente, mais associado a casos assintomáticos do que sintomáticos em infecções primárias e, é mais frequente em casos de insucesso do tratamento, do que em infecções primárias.

SHIPPER, *et al.*, (2004) compararam, pelo período de 30 dias, a infiltração bacteriana do *Streptococcus mutans* e *Enterococcus faecalis* por meio de obturações com cones de guta-percha e Resilon empregados com duas diferentes técnicas. As coroas dentárias foram seccionadas e os canais foram preparados até os instrumentos 40 e 50. As raízes foram, então, divididas em 8 grupos experimentais e 3 grupos controle para terem os canais obturados pelas técnicas da condensação lateral e compactação vertical com guta-percha e AH 26 (grupos 1 e 2) ou guta-percha e Epiphany (grupos 3 e 4). Os grupos 5 e 6 foram obturados com Resilon e Epiphany. Um aparato de infiltração foi utilizado para que o *Streptococcus mutans* fosse inoculado na porção coronária da raiz de maneira que só atingisse o ápice através do canal radicular. Os grupos 7 e 8 foram idênticos aos grupos 5 e 6 exceto que, o microorganismo rastreador utilizado foi o *Enterococcus faecalis*. O controle positivo foi preenchido com Resilon ou guta-percha sem cimento, enquanto o controle negativo foi completamente selado para testar a eficiência do aparato.

Com exceção de um, todos os espécimes do controle positivo apresentaram infiltração dentro de 24 horas enquanto nenhum dos espécimes do grupo controle negativo apresentou infiltração. O Resilon (grupo 8: um espécime e grupos 5, 6 e 7: dois espécimes com infiltração) apresentou o menor número de espécimes com infiltração, apresentando diferença significativa quando comparado com a gutapercha, cujos espécimes apresentaram 80% de infiltração indiferentemente da técnica empregada.

2.4 ANÁLISE HISTOLÓGICA

MATSUO, *et al.*, (2003) examinaram a prevalência e localização de bactérias nos túbulos dentinários de dentes infectados. Quarenta dentes extraídos que apresentavam lesão apical foram selecionados e divididos em dois grupos: um grupo de dentes não tratados e, o outro grupo, de dentes com canais instrumentados. As bactérias presentes nos espécimes foram identificadas pela técnica de Brown e Breen. Um total de 70% dos dentes examinados apresentaram bactérias invadindo os túbulos dentinários. *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterim alactolyticum*, *E. Nodatum*, *Lactobacillus casei* e *Peptostreptococcus micros* foram encontrados em grandes quantidades. Mesmo nos canais instrumentados, a invasão bacteriana foi observada em 65% dos dentes. Este estudo revelou as condições bacterianas na dentina infectada e sugere que, a instrumentação dos canais não é capaz de remover completamente as bactérias dos túbulos dentinários contaminados.

Ainda em 2003, RICUCCI; BERGENHOLTZ avaliaram os achados histológicos e microbiológicos de 32 dentes que tiveram suas obturações expostas à cárie e ao meio bucal por um um longo período de tempo. Apenas dentes com tratamento endodôntico realizado a três anos ou mais e, aqueles que, permaneceram sem restauração por, no mínimo, três meses foram incluídos nesse estudo. A maioria dos espécimes não apresentaram lesão periapical visível radiograficamente. Cortes longitudinais dos dentes foram obtidos e corados pela técnica de coloração de Brown e Breen, revelando a presença abundante de bactérias na entrada dos canais radiculares e túbulos dentinários, Em dois espécimes as bactérias estavam presentes também nos terços médio e apical da raiz. Concluiu-se que, canais radiculares bem instrumentados e obturados resistem

a penetração bacteriana, mesmo em longos períodos de exposição ao meio oral devido à cáries , perda ou fratura das resturações.

TANOMARU, *et al.*, (2008) avaliaram a distribuição bacteriana no sistema de canais radiculares, após lesão periapical induzida em dentes de cães, utilizando-se de diferentes métodos. Cinquenta e dois canais radiculares foram divididos em 4 grupos (n=13). Grupos I e II: os canais foram expostos à cavidade oral por 180 dias; Grupos III e IV: os canais radiculares foram expostos por 7 dias e as aberturas coronárias foram seladas por 53 dias. Os animais foram mortos e as peças anatômicas contendo as raízes foram processadas e coradas pela técnica de Brown e Breen. Todos os grupos apresentaram micro-organismos em toda a extensão do canal radicular. Um grande número de micro-organismos foi observado nas paredes dos canais radiculares, delta apical e túbulos dentinários, além do cimento e áreas de reabsorção cementária.

BROSCO, *et al.*, (2010) avaliaram histologicamente, a presença de dentina infectada em canais radiculares obturados com 4 diferentes técnicas de obturação (sistema MicroSeal, Touch`n Heat + Ultrafil e técnica híbrida de Tagger) e, com diferente extensão de material obturador remanescente (5mm e 10mm). As raízes foram esterilizadas em óxido de etileno e submetidas ao teste de infiltração bacteriana utilizando o *Enterococcus faecalis*, por um período de 120 dias. De um total de 154 espécimes que foram avaliados utilizando-se ambas metodologias, 50 raízes (32,4%) apresentaram infiltração ao final do período experimental e, 118 espécimes (76,6%) mostraram a presença de bactérias na avaliação histológica. Observou-se que, mesmo com um adequado selamento do forame apical, mostrado pela ausência de turbidez do meio, no teste de infiltração, a infecção por *Enterococcus faecalis* se mostrou presente em uma alta porcentagem de canais. A técnica híbrida de Tagger apresentou a maior quantidade de bactérias quando comparada com as outras técnicas obturadoras.

3 Proposição

3 PROPOSIÇÃO

Este trabalho teve como objetivos:

- 1- Avaliar a capacidade seladora dos cimentos AH Plus®, RealSeal® e Sealepox frente à infiltração bacteriana, em obturações de canais radiculares realizadas com as técnicas da condensação lateral e compactação vertical.
 - 2- Realizar a análise histológica dos espécimes submetidos aos testes de infiltração quanto à penetração bacteriana dos canais radiculares e túbulos dentinários.
 - 3- Comparar a efetividade do teste da infiltração bacteriana com a análise histológica.
-

4 Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 SISTEMAS DE OBTURAÇÃO UTILIZADOS

4.1.1 Sistema Elements (Sybron Endo, Orange, CA, EUA)

Este sistema oferece, em um único dispositivo, um cabo do aparelho System B e uma pistola para injeção de guta-percha. Nesta pistola se carregam uns cartuchos que levam a ponta incorporada. O sistema permite tanto o uso de guta-percha como o de Resilon (Sybron Endo, Glendora, CA, EUA). É mais limpo e fácil de manejar que a pistola Obtura e tem como vantagem ergonômica, oferecer dois dispositivos unificados.

4.1.1.1 Componentes do Sistema Elements

4.1.1.1.1 System B

O aparelho System B consta de cinco calcadores ou pluggers de diferentes conicidades, isto é, conicidades de 4%, 6%, 8%, 10%, 12% e um plugger com diâmetro apical de 0,5mm.

4.1.1.1.2 Injetor de guta-percha

Peça acoplada ao sistema Elements para injeção da guta-percha, que se aquece a uma temperatura de até 200°C. Para introduzir a guta-percha no interior do canal, utilizam-se agulhas de prata conectadas à peça. A eleição do tamanho da agulha de prata é feita em função da anatomia do canal radicular, utilizando-se as de maior diâmetro nos canais mais amplos.

4.2 CIMENTOS OBTURADORES

4.2.1 AH Plus

O AH Plus é um cimento para obturação de canais radiculares que é apresentado na forma pasta/pasta, à base de resinas epoxy-amina.

Pasta A:

- Resina epóxica Bisfenol A
- Resina epóxica Bisfenol F
- Tungstato de cálcio
- Óxido de zircônio
- Silica
- Pigmentos de óxido de ferro

Pasta B:

- Dibenzil diamina
- Aminoadamantane
- Tricyclodecane-diamina
- Tungstato de cálcio
- Óxido de zircônio
- Silica
- Óleo de silicone

4.2.2 RealSeal

Cimento obturador de canal, cuja matriz compreende BisGMA, BisGMA etoxilado, UDMA, metacrilato hidrofílico com hidróxido de cálcio, sulfato de bário, oxicloreto de bismuto e sílica.

Os cones Resilon são cones à base de polímero sintético termoplástico (poliéster) que possui em sua composição vidro bioativo, oxicloreto de bismuto e sulfato de bário. Estão disponíveis como cones principais nos diâmetros ISO com conicidades 0,02; 0,04 e 0,06, além de cones acessórios.

4.2.3 Sealepox

Cimento para obturação de canais radiculares à base de resina epóxi-amina, apresentado na forma de duas pastas.

Pasta base:

- Hidróxido de cálcio
- Tungstato de cálcio
- Fosfato de cálcio
- Resina epóxica Bisfenol A

Pasta catalisadora:

- Sulfato de bário
- Subnitrato de bismuto
- Endurecedor para resina epóxica
- Polioli de poliuretana vegetal (mamona)

4.3 ETAPAS OPERATÓRIAS

4.3.1 Seleção dos dentes.

Para a realização desse estudo, o projeto foi previamente apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru USP, sob o processo nº 111/2009.

Cem pré-molares inferiores humanos hígidos ou com restaurações rasas de amálgama ou resina foram selecionados para este estudo. Apenas dentes que apresentavam canal único, sem calcificações ou anormalidades, condições estas constatadas por meio de exame radiográfico, foram incluídos neste experimento.

Com auxílio de curetas periodontais de Gracey (S.S. White Artigos Dentários LTDA – Juiz de Fora – MG- Brasil) os tecidos moles e cálculos presentes na superfície radicular foram cuidadosamente removidos.

Os dentes foram mantidos em solução de formol a 10% (Farma – Tici Indústria Farmacêutica – São Paulo – SP – Brasil) até o momento da utilização

quando, então, foram transferidos para solução fisiológica, onde permaneceram até o momento da obturação.

4.3.2 Preparo dos canais radiculares

A abertura coronária dos dentes foi realizada com pontas diamantadas esféricas de número 1013 e 1014 (KG Sorensen Indústria e Comércio LTDA – Barueri – São Paulo – Brasil) e, complementada com pontas diamantadas de ponta inativa de números 3082 e 3083, dependendo do tamanho da coroa.

A determinação do comprimento do dente foi realizada introduzindo-se uma lima tipo Kerr nº 10 (Dentsply Maillefer Instruments – Ballaigues – Suíça) no interior do canal radicular até que sua extremidade fosse visualizada ao nível do forame apical. Os canais foram instrumentados, inicialmente, neste comprimento até a lima tipo K nº 25 para padronização do diâmetro do forame. Para a confecção do batente apical subtraiu-se um milímetro daquele comprimento. Os canais foram preparados mecanicamente utilizando-se os instrumentos ProTaper S1 e SX, para o preparo cervical e S2, F1, F2, F3, F4 e F5 em toda a extensão do canal (Dentsply Maillefer Instruments – Ballaigues – Suíça).

Durante toda a instrumentação a patência do canal foi mantida com a lima tipo K nº 25 e os canais foram irrigados com hipoclorito de sódio a 1% a cada troca de instrumento, com auxílio de uma seringa Luer-Look (BD – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas LTDA – Rio de Janeiro – RJ – Brasil) e cânulas de irrigação nº 30x4 (Duflex – S.S. White Artigos Dentários LTDA – Rio de Janeiro – Brasil). Ao final da instrumentação os canais foram irrigados com solução fisiológica e aspirados com cânulas de sucção.

4.3.3 Padronização do comprimento radicular

Previamente à obturação, os dentes foram medidos com auxílio de uma régua e marcados com um lápis (Faber Castel S.A. – São Carlos – SP – Brasil) na extensão de 15mm, na intenção de padronizar o comprimento das raízes. Foram, então, seccionados transversalmente com um disco de carborundum (Dentorium – Internacional – New York – USA), separando-se as coroas das raízes.

4.3.4 Aplicação de EDTA e secagem dos canais radiculares

Após o seccionamento dos coroas dentes, os canais radiculares foram irrigados com EDTA a 17% (Odahcam Dentsply Indústria e Comércio LTDA – Petrópolis – RJ – Brasil) por 3 minutos, para remoção da “smear layer”, seguido pela irrigação com solução fisiológica, aspiração do excesso de líquido dos canais e secagem com cones de papel absorvente de nº 50 (Tanariman Industrial – Manacapuru – AM – Brasil).

4.3.5 Obturação dos canais radiculares

Das 100 raízes utilizadas, 90 foram distribuídas aleatoriamente em 6 grupos experimentais de 15 elementos cada, de acordo com os cimentos e as técnicas obturadoras utilizados. As 10 restantes raízes foram distribuídas entre os grupos controle positivo e negativo, conforme descrito na tabela 1.

TABELA 1: Distribuição do número de raízes, de acordo com os grupos controles e experimentais, em função das técnicas e cimentos obturadores.

| Grupos | Material | Técnica de obturação | |
|--------|-------------------------|----------------------|----------------------|
| | | Condensação lateral | Compactação vertical |
| 1 | AHPlus | 15 | 15 |
| 2 | | | |
| 4 | RealSeal | 15 | 15 |
| 5 | | | |
| 6 | Sealepox | 15 | 15 |
| 7 | | | |
| 8 | Controle positivo (n=5) | | |
| | Controle negativo (n=5) | | |

4.3.5.1 Seleção do cone principal

Para os grupos experimentais dos cimentos AH Plus e Sealepox foram utilizados os cones principais estandardizados nº F5 do sistema ProTaper. Nos grupos do cimento Real Seal, foram utilizados cones principais de Resilon 50.04.

Em todos os grupos o cone era considerado adequado quando penetrava em toda a extensão de instrumentação e, apresentava uma leve resistência à remoção, caracterizando um travamento. Caso o cone não apresentasse travamento, a sua extremidade era seccionada sobre uma placa de vidro com o auxílio de uma lâmina de bisturi nº11, até conseguir-se a resistência à remoção.

4.3.5.2 Preparo do cimento obturador

Todos os cimentos foram manipulados de acordo com as especificações do fabricante.

4.3.5.2.1 AHPlus

De acordo com o fabricante devem-se misturar partes iguais de volume (1:1) da pasta A e pasta B em uma placa de vidro ou bloco de mistura, utilizando uma espátula de metal. Misturar até que se obtenha uma consistência homogênea.

4.3.5.2.2 Real Seal

O cimento RealSeal apresenta-se em uma bisnaga contendo a pasta base e pasta catalisadora separadas, que são unidas no momento em que a bisnaga é pressionada. Na ponta da bisnaga acopla-se uma ponta dispensadora, contendo um espiral que, promove a mistura das duas pastas. Dispensa-se, então, o cimento em uma placa de vidro para ser aplicado no interior do canal.

4.3.5.2.3 Sealepox

Antes da retirada das pastas dos frascos, as mesmas devem ser homogeneizadas devidamente, utilizando, de preferência, espátulas de plástico

(utilizar uma espátula para cada pasta). A proporção da quantidade das pastas deve ser de 2 porções da pasta base para uma porção de pasta catalisadora, em volume. Dispensar as pastas, devidamente proporcionadas, sobre uma placa de vidro e, com uma espátula de metal (nº 24) espatular vigorosamente por, mais ou menos, 30 segundos.

4.3.5.3 Técnicas obturadoras

4.3.5.3.1 Condensação Lateral

4.3.5.3.1.1. Grupos 1 e 5

O assentamento do cone principal de guta-percha nos grupos 1 e 5 foi realizado pela técnica controlada, onde o cone principal era totalmente envolto pelo cimento, com exceção de sua extremidade e, então, introduzido no canal em movimento único. Após o assentamento do cone principal, realizou-se a condensação lateral ativa, abrindo-se espaços para a introdução de cones acessórios com o auxílio de uma lima do tipo K, nº 30, conforme preconizado por (BRAMANTE; BERBERT; PICCINO, 1972).

Para a realização da condensação lateral, a lima era levada ao interior do canal radicular em movimento de impulsão apical, procurando penetrar o mais próximo possível do comprimento de trabalho. Movimentos de lateralidade eram realizados e a lima era removida, girando-a no sentido anti-horário, e, no espaço obtido, imediatamente, era introduzido um cone de guta-percha acessório B7 (Tanariman Industrial – Manacapuru – AM – Brasil).

Esse procedimento era repetido até que a lima não mais penetrasse no canal radicular. Na seqüência, o corte da obturação era realizado com o auxílio de um condensador aquecido e a compactação vertical era, então, realizada com um condensador frio.

4.3.5.3.1.2 Grupo 3 – Cimento RealSeal

Todo o procedimento foi realizado seguindo-se o manual do fabricante. Duas a três gotas do RealSeal primer foram dispensadas sobre uma placa de vidro e, com

o auxílio de um cone de papel, o primer foi levado para o interior do canal até o comprimento de trabalho, sendo aplicado em todas as paredes do canal. O excesso de primer foi removido com auxílio de cones de papel esterilizados. A obturação foi realizada da mesma maneira já descrita anteriormente, para os grupos 1 e 5, ou seja, assentamento do cone principal pela técnica biológica controlada e condensação lateral com lima do tipo K. Ao completar-se a obturação, o cimento na entrada dos canais radiculares foi fotopolimerizado por 40 segundos. Este procedimento, de acordo com o fabricante, promove, imediatamente, um selamento coronário. O restante do cimento, no interior do canal, toma presa em aproximadamente 45 minutos.

4.3.5.3.2 Compactação Vertical

4.3.5.3.2.1 Grupos 2, 4 e 6

Nesses grupos, os canais radiculares foram obturados no terço apical utilizando-se o System B e nos terços cervical e médio o injetor de guta-percha/resilon, próprio do aparelho.

4.3.5.3.2.1.1 Obturação do terço apical - System B

Os cones principais, tanto de guta-percha, quanto o resilon, foram selecionados da mesma maneira que para a técnica da condensação lateral, bem como o assentamento dos mesmos.

Após o assentamento dos cones principais, procedeu-se à fase operatória da obturação, obturando-se, primeiramente, o terço apical dos canais radiculares.

O calcador do System B foi utilizado à temperatura de 200°C (grupos 2 e 6) e a 150°C (grupo 4) para cortar o cone de guta-percha ao nível da embocadura do canal. Calcadores de Buchanan (SybronEndo, Glendora, CA, EUA) foram então utilizados para adaptar o cone ao nível da embocadura. O calcador elétrico .06 do System B aquecido foi introduzido no canal e posicionado a 4 mm do comprimento de trabalho e mantido em posição por 10s. Para a remoção, o calcador foi acionado por 1s para, então, ser retirado do interior do dente. O cone foi condensado e adaptado apicalmente com calcadores de Buchanan.

4.3.5.3.2.1.2 Obturação dos terços médio e cervical

Uma camada de cimento foi aplicada em toda a extensão não obturada do canal, com auxílio de um cone. O preenchimento dessa extensão foi, então, realizado utilizando-se uma peça de mão (extruder) com uma ponta dispensadora de diâmetro gauge 23, contendo pellets de Resilon (a uma temperatura de 150°C) para o grupo 4 ou de guta-percha (a uma temperatura de 200°C) para os grupos 2 e 6. A guta-percha plastificada foi condensada com auxílio de um condensador de diâmetro apropriado. No grupo do Resilon, após a condensação com condensador de diâmetro apropriado, o excesso de material foi removido e, a superfície coronária da obturação foi fotopolimerizada (Ultralux, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) por 40s para atingir a imediata polimerização do cimento localizado na embocadura do canal.

4.3.5.4 Radiografias finais

Os espécimes de todos os grupos foram radiografados no sentido mesio-distal para a verificação da qualidade da obturação. Quando constatada a presença de falhas ou espaços vazios estes eram preenchidos, pela repetição da técnica, realizada até a constatação da homogeneidade da obturação.

4.3.5.5 Armazenagem dos espécimes após a obturação

Após a obturação, os espécimes foram mantidos em meio úmido, envoltos em gaze úmida, colocados em recipientes tampados com uma gaze presa por um elástico. Esses recipientes foram devidamente identificados com etiquetas de acordo com a técnica e cimento utilizados e mantidos em estufa a 37°C por sete dias.

4.4. INFILTRAÇÃO BACTERIANA

4.4.1 Impermeabilização dos remanescentes radiculares

Para facilitar o manuseio, os remanescentes radiculares foram fixados em palitos de madeira com auxílio de cera utilidade (Polidental Indústria e Comércio LTDA – São Paulo – SP – Brasil) aplicada na entrada dos canais radiculares.

Utilizando-se um pincel microbrush (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) duas camadas de adesivo epóxi Araldite de presa rápida (Brascola LTDA – Indústria Brasileira – Taboão da Serra – SP – Brasil) foram aplicadas na superfície externa dos remanescentes radiculares, com intervalo de 12 horas entre as aplicações. Após a presa do adesivo os palitos, juntamente com a cera utilidade, foram removidos dos remanescentes radiculares.

Com exceção dos espécimes do grupo controle negativo, nos demais a impermeabilização não incluiu as proximidades dos canais na cervical e 1 mm ao redor do forame apical.

No grupo controle negativo incluiu-se o forame apical deixando sem impermeabilização apenas a embocadura dos canais radiculares.

4.4.2 Montagem dos remanescentes radiculares em eppendorfs e esterilização dos conjuntos em óxido de etileno

Para que os remanescentes radiculares fossem esterilizados, microtubos de polipropileno – tubos para centrífuga do tipo eppendorf (Axygen Scientific Inc. – USA) - tiveram as extremidades inferiores seccionadas para permitir a inserção dos remanescentes de maneira que, aproximadamente 3 mm da porção apical dos mesmos ficassem projetados para fora do tubo.

A junção entre as raízes e o eppendorf foi selada utilizando-se o adesivo araldite, de presa rápida, que foi aplicado com auxílio de um pincel microbrush.

Os espécimes foram identificados por números, de acordo com o grupo ao qual pertenciam e, então, foram embalados individualmente para serem esterilizados em óxido de etileno, durante 4 horas à temperatura de 56°C.

4.4.3 Preparo dos frascos de vidro, tipo penicilina

Cem frascos de vidro, tipo penicilina, foram lavados, secos e, provisoriamente, tampados com algodão (Johnson & Johnson Indústria e Comércio LTDA – São José dos Campos – SP – Brasil). As tampas originais (de borracha) dos frascos foram perfuradas, em formato circular para que, posteriormente, os tubos de plástico (eppendorf) se encaixassem perfeitamente nos furos. Os frascos e suas respectivas tampas foram esterilizados em autoclave por 20 minutos a 120°C.

Foi preparado caldo de BHI (brain heart infusion) seguindo as instruções do fabricante (37 g de pó para 1000 mL de água destilada). As tampas de algodão foram tiradas e, alíquotas de 5 mL deste caldo foram dispensadas em cada um dos 100 frascos. Estes foram fechados com as tampas perfuradas, porém, envoltas em papel alumínio, novamente esterilizados em autoclave e mantidos em estufa a 37°C, durante 24 horas, para confirmação da esterilidade do conjunto.

4.4.4 Montagem do dispositivo para o teste de infiltração bacteriana

Para a realização dessa etapa todos os instrumentos utilizados (placa de vidro, pinça clínica, espátula, palito de madeira) foram previamente esterilizados em autoclave (Seron Ind. e Com. de Aparelhos Médicos Hospitalares LTDA a 120°C, durante 20 minutos. Todo o procedimento de montagem foi realizado no interior de uma câmara de fluxo laminar (Veco Indústria Brasileira – Campinas – SP – Brasil) para evitar contaminação dos espécimes.

Para a montagem, os remanescentes radiculares fixados nos tubos de plástico foram retirados da embalagem com auxílio de uma pinça clínica e, adaptados nos furos das tampas dos frascos de vidro, que continham o caldo BHI, de maneira que, a porção apical ficasse imersa no caldo BHI.

As junções entre o tubo de plástico e a tampa de borracha e entre esta e o frasco de vidro foram seladas com o adesivo araldite de presa rápida para evitar evaporação do meio de cultura e a contaminação dos espécimes. Para isto, a cola foi manipulada em placa de vidro esterilizada com uma espátula e a sua inserção foi feita com o auxílio de um palito de madeira estéril.

Após a montagem final dos dispositivos, estes permaneceram por 72 horas em estufa a 37°C para que a esterilidade do conjunto fosse confirmada.

Caso algum espécime mostrasse turvação do meio (caldo BHI), o mesmo era descartado, pois, indicava que houve contaminação durante a montagem.

4.4.5 Preparo do micro-organismo

Todas as etapas de ativação do micro-organismo e o teste de infiltração coroa/apice foram realizados no interior da câmara de fluxo laminar.

4.4.6 Reativação da amostra bacteriana

Uma cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 foi reativada em 4,0mL de caldo BHI estéril e mantida em estufa a 37°C pelo período de 48 horas. Após esse período o caldo de BHI encontrava-se turvo, indicando que houve crescimento do *Enterococcus faecalis*.

4.4.7 Coloração de Gram

Uma porção do caldo de BHI turvo era retirada com auxílio de uma alça de platina e um esfregaço era feito em uma lâmina de vidro para a realização da coloração de Gram.

Após a coloração, com o auxílio do microscópio (Model CHS – Olympus Optical LTDA – Japan), identificou-se a presença de cocos Gram-positivos organizados em cadeia, compatíveis com o *Enterococcus faecalis*.

4.4.8 Meio de cultura M-Enterococcus Agar

O meio de cultura M-Enterococcus Agar (Acumedia, Lansin, MI, EUA) foi preparado seguindo as instruções do fabricante (71,35g de pó para 1000 mL de água destilada), e distribuído em alíquotas de 20 mL por placa de Petri (Pyrex – USA).

Uma amostra de caldo de BHI turvo foi transferida para a placa de Petri contendo o meio M-Enterococcus Agar e semeada com uma alça de platina.

A placa foi, então, mantida em estufa a 37°C por 24 a 48 horas para permitir o crescimento do microorganismo e verificação de sua morfologia colonial.

4.4.9 Repique do micro-organismo

Depois de uma colônia de *Enterococcus faecalis* ter sido isolada da placa contendo M-Enterococcus Agar, a colônia foi transferida, com auxílio de uma alça de platina, para um tubo de vidro com tampa de rosca (Pyrex – USA), contendo 4 mL de caldo BHI estéril. O tubo foi mantido em estufa a 37°C, por 24 horas.

Transcorrido esse prazo, 100µl de caldo turvo de BHI foram transferidos para um outro tubo de rosca, também, contendo 4 mL de caldo de BHI estéril (repique do micro-organismo), sendo este procedimento realizado por 2 dias consecutivos. Os tubos foram mantidos nas mesmas condições descritas anteriormente.

Os repiques do *Enterococcus faecalis* foram realizados para obter-se a fase de crescimento exponencial da bactéria, período compreendido entre 15 a 18 horas após a sua inoculação no caldo de BHI, onde as células apresentam as condições mais adequadas para a realização do teste de infiltração.

4.4.10 Preparo do caldo para o teste de infiltração

Após os repiques sucessivos do *Enterococcus faecalis* preparou-se o caldo a ser utilizado no teste de infiltração.

Para isso, 4,0mL de caldo de BHI contendo *Enterococcus faecalis* foram transferidos para um elenmeyer (Pyrex – USA) contendo 100mL de caldo de BHI estéril, sendo incubado em estufa a 37°C, durante 15 horas.

4.4.11 Teste de infiltração coronária

Alíquotas de 500µl da cultura de *Enterococcus faecalis* foram transferidas com o auxílio de pipetas automáticas e ponteiras descartáveis, para a parte superior dos tubos tipo eppendorf, fazendo com que o caldo com micro-organismos ficasse em contato com a porção cervical dos remanescentes radiculares.

A cada 7 dias, o caldo de BHI era retirado do tubo e 500µl do novo caldo de BHI, inoculado com micro-organismos, era depositado nos eppendorfs, como já citado anteriormente.

A retirada do caldo antigo e a transferência de novo caldo para o tubo era realizada no interior da câmara de fluxo laminar com o auxílio de seringas e

ponteiras descartáveis além de pipetas estéreis, para evitar contaminação dos espécimes por outros microorganismos.

4.4.12 Observação dos espécimes

Os espécimes foram analisados diariamente, pelo período de 60 dias, para constatação da ocorrência ou não da infiltração bacteriana. Esta era evidenciada quando o meio de BHI, em contato com a porção apical (Figura 1A) do remanescente radicular, tornava-se turvo, indicando que houve a passagem do *Enterococcus faecalis* pela obturação do canal (Figura 1B). Quando constatada a turvação, o número do espécime e o dia de ocorrência eram anotados.

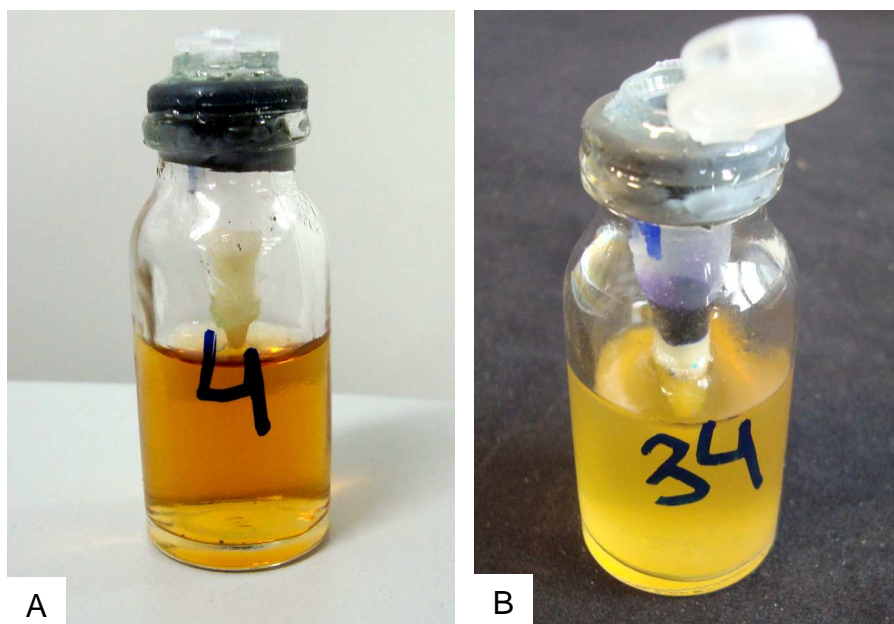


FIGURA 1: A- Espécime sem infiltração coronária e B- Espécime com infiltração coronária, evidenciada pela turbidez do meio de cultura em contato com a porção apical do remanescente radicular.

4.4.13 Teste de viabilidade das bactérias

A cada 14 dias, quando da troca do caldo de BHI, um espécime era escolhido aleatoriamente, para o teste de viabilidade das bactérias.

Para isso, o caldo presente no eppendorf, que seria descartado, era transferido para tubos de rosca de 13x100mm, contendo 4 mL de caldo BHI estéril e mantido em estufa a 37° C.

A viabilidade das bactérias era, então, constatada quando ocorria a turvação do meio.

Este procedimento foi realizado durante todo o período experimental.

4.4.14 Desmontagem dos aparatos que apresentaram infiltração

Ao apresentar infiltração, constatada pela turvação do meio de BHI em contato com a porção apical do remanescente radicular, o aparato de infiltração era desmontado. O meio de cultura presente no interior do eppendorf era retirado e descartado. O eppendorf era, então, separado do frasco tipo penicilina, pressionando-se a tampa de borracha contra as paredes laterais do frasco, rompendo, assim, a camada de cola araldite. O mesmo procedimento era realizado para separar o remanescente radicular do eppendorff.

Uma pequena amostra do caldo BHI turvo era utilizada para a confecção de um esfregaço e confirmação da morfologia celular, pela coloração de Gram.

Decorridos os 60 dias, período estipulado para a análise da infiltração bacteriana neste experimento, os espécimes que não apresentaram infiltração foram desmontados dos seus aparatos da mesma maneira que aqueles que sofreram infiltração.

4.5 ANÁLISE HISTOLÓGICA

4.5.1 Descalcificação dos remanescentes radiculares em solução de Morse

Após o teste de infiltração, 93 remanescentes radiculares (7 foram descartados por contaminação durante a montagem do aparato) foram colocados em frascos de vidro com tampa, devidamente numerados.

Em cada frasco foram depositados aproximadamente 10 mL de solução de Morse para a desmineralização dos remanescentes radiculares.

A solução de Morse foi preparada misturando-se partes iguais das soluções A: 500mL de ácido fórmico (Merck – Darmstadt – Germany) + 500mL de água destilada e B: 400g de citrato de sódio (Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas LTDA – Rio de Janeiro – RJ – Brasil) + 2000mL de água destilada.

Diariamente os remanescentes radiculares eram examinados até perceber-se uma desmineralização inicial, constatada pela introdução de uma agulha fina no remanescente radicular (Figura 2A),

Após a desmineralização inicial, era realizado o seccionamento longitudinal dos remanescentes, utilizando-se uma lâmina de bisturi (Figura 2B), originando duas metades que foram recolocadas na solução de Morse.

A solução de Morse era renovada duas vezes por semana, substituindo-se a solução antiga, pela nova.

Para servir como controle, na fase de coloração, dois dentes cariados foram desmineralizados da mesma forma que os remanescentes radiculares utilizados no experimento.

4.5.2 Processamento histotécnico e inclusão dos remanescentes radiculares em blocos de parafina

Quando os remanescentes radiculares encontravam-se no ponto ideal de desmineralização, eram colocados em cassetes e imersos em água corrente por uma hora para, então, serem inseridos no aparelho Histotécnico.

No aparelho Histotécnico, os remanescentes radiculares foram desidratados em soluções crescentes de álcool (70%, 95% e absoluto), diafanizados em xilol e inseridos em banhos de parafina líquida.

As duas metades radiculares foram, então, colocadas em caixinhas de papel, individuais (de aproximadamente 3cm de largura x 3cm de comprimento x 2,5cm de altura) com o canal radicular em contato com o fundo da caixa e, então, sobre as raízes foi vertida parafina líquida até que a caixinha de papel fosse totalmente preenchida. Estas foram devidamente identificadas e numeradas.

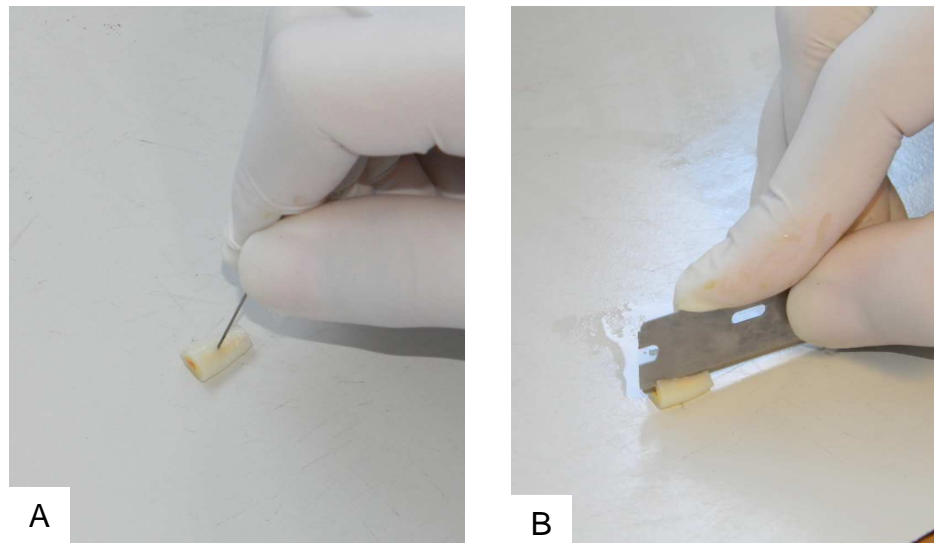


FIGURA 2: A- Constatação da desmineralização inicial do remanescente radicular. B- Seccionamento longitudinal do remanescente radicular, gerando duas hemi-partes.

4.5.3 Microtomia e obtenção das lâminas

Os blocos de parafina foram retirados da caixinha de papel e recortados com um canivete para regularização de suas superfícies.

Para a realização dos cortes, os blocos eram, então, fixados no micrótomo (modelo RM 2045) e desgastados até que se visualizasse toda a extensão do canal. Nesse momento, os remanescentes radiculares eram seccionados em cortes de $4\mu\text{m}$ de espessura.

Para cada remanescente radicular foram obtidas três lâminas, contendo cinco a seis cortes cada, dependendo do diâmetro da raiz.

4.5.4 Coloração de Brown e Brenn

Obtidas as lâminas, as mesmas foram acondicionadas em caixas específicas para serem coradas pela coloração de Brown e Brenn.

Para a realização desta coloração, as seguintes soluções devem ser preparadas com 24 horas de antecedência, armazenadas em frascos escuros e filtrada em papel filtro para, então, serem utilizadas:

Hematoxilina de Harris

| | |
|---------------------------------|-------|
| Hematoxilina _____ | 1g |
| Álcool etílico absoluto _____ | 10mL |
| Alúmen de potássio _____ | 20g |
| Óxido de mercúrio amarelo _____ | 0,5g |
| Água destilada _____ | 200mL |

Cristal violeta

| | |
|-------------------------------|------|
| Cristal violeta _____ | 4g |
| Álcool etílico absoluto _____ | 40mL |
| Ácido carbólico (fenol) _____ | 8g |
| Água destilada _____ | 40mL |

Solução de Lugol

| | |
|--------------------------|-------|
| Iodo _____ | 1,5g |
| Iodeto de potássio _____ | 3g |
| Água destilada _____ | 400mL |

Solução de Galego

| | |
|----------------------|-------|
| Formaldeído _____ | 8mL |
| Ácido glacial _____ | 4mL |
| Água destilada _____ | 400mL |

Éter – acetona

| | |
|---------------|-------|
| Éter _____ | 160mL |
| Acetona _____ | 240mL |

Fucsina básica

| | |
|----------------------|-------|
| Fucsina _____ | 1g |
| Água destilada _____ | 400mL |

Ácido pícrico – acetona

| | |
|---------------------|--------|
| Ácido pícrico _____ | 4g |
| Acetona _____ | 400 mL |

Acetona – xilol

Xilol _____ 200 mL

Acetona _____ 200 mL

As lâminas foram colocadas em um berço histológico e os cortes foram desparafinados em xilol e desidratados em álcool. Em seguida, os cortes foram corados pela coloração de Brown e Brenn utilizando-se a seguinte sequência:

- ✓ Coloração em hematoxilina de Harris durante 15 min e lavagem em água para remover o excesso do corante
 - ✓ Inserção rápida (2 a 3s) das lâminas no diferenciador
 - ✓ Lavagem em água corrente durante 10min
 - ✓ Secagem das bordas das lâminas com papel de filtro para remover o excesso de água
 - ✓ Coloração em cristal violeta durante 2min e remoção do excesso da solução
 - ✓ Imersão no lugol durante 2min e remoção do excesso da solução
 - ✓ Diferenciação dos cortes em éter-acetona por poucos segundos para remover o excesso do corante
 - ✓ Lavagem em água destilada e secagem das bordas das lâminas com papel de filtro
 - ✓ Coloração em fucsina durante 1,5min e remoção do excesso da solução
 - ✓ Lavagem em água destilada e secagem das bordas das lâminas com papel de filtro
-
-

- ✓ Imersão em acetona durante 10s
- ✓ Diferenciação em solução de ácido pícrico – acetona durante 10s (até que o tecido apresentasse uma coloração amarelada)
- ✓ Imersão em acetona três vezes, sob leve agitação
- ✓ Imersão em acetona – xilol durante 15s
- ✓ Imersão em xilol I, II e III

4.5.5 Leitura das lâminas

Com o auxílio de um microscópio munido de objetiva 40, resultando em um aumento de 400 vezes, foi realizada a leitura das lâminas. A lâmina, cujo corte, apresentava o canal radicular em toda sua extensão era escolhida para a leitura. Nos casos onde não era possível visualizar o canal radicular por completo, mais de uma lâmina foi analisada por remanescente radicular.

A microscopia foi utilizada para se avaliar a presença ou não de *Enterococcus faecalis* nos remanescentes radiculares, além da localização dos mesmos nos canais radiculares e túbulos dentinários. Escores foram atribuídos de acordo com a presença e penetração das bactérias. O escore 0 foi atribuído caso não ocorresse a presença de bactérias no canal. Escore 1 se as bactérias estivessem localizadas apenas na parede do canal radicular; escore 2 se a penetração das bactérias, na massa dentinária, não houvesse ultrapassado a metade da parede radicular; escore 3 se uma pequena quantidade de bactérias ultrapassou mais da metade da parede radicular e escore 4 se uma grande quantidade de bactérias, ultrapassou mais da metade da parede radicular, em direção ao cimento.

Todos os escores foram tabulados e submetidos à análise estatística, utilizando-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e o teste de Dunn, para comparações individuais, com nível de significância de 5%.

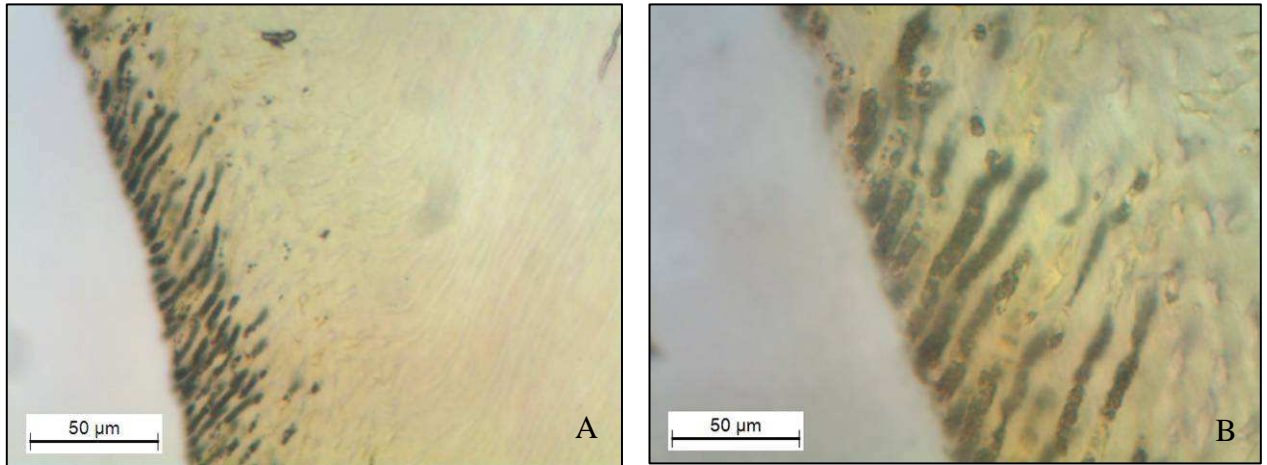


FIGURA 3: Penetração do cimento obturador nos túbulos dentinários. Técnica da compactação vertical + cimento AH Plus. Coloração de Brown e Brenn, aumento original de 400x (figura A) e 1000x (figura B).

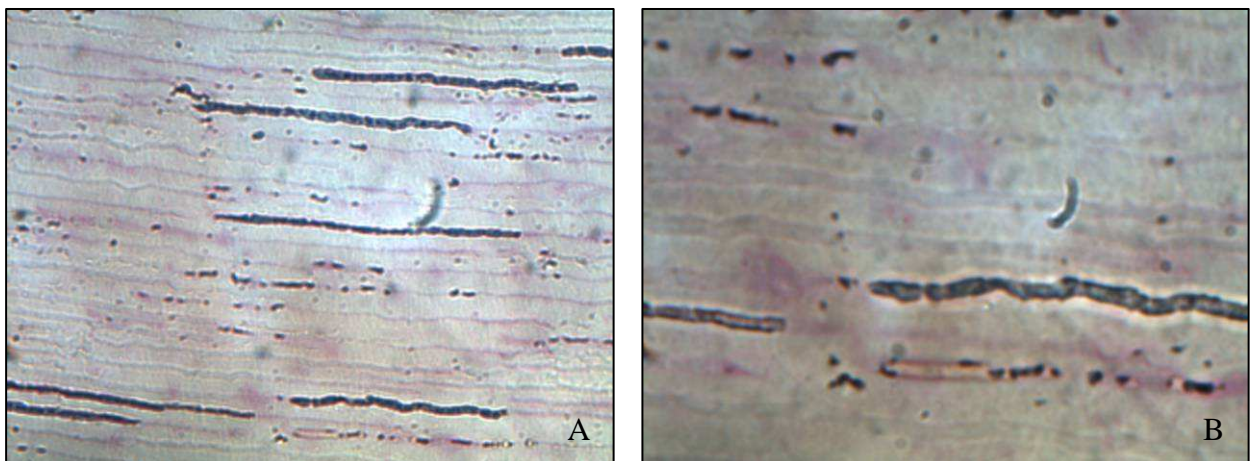


FIGURA 4: Bactérias no interior dos túbulos dentinários – escore 4. Técnica da compactação vertical + cimento AH Plus. Coloração Brown e Brenn, aumento original de 400x (A) e 1000x (B).

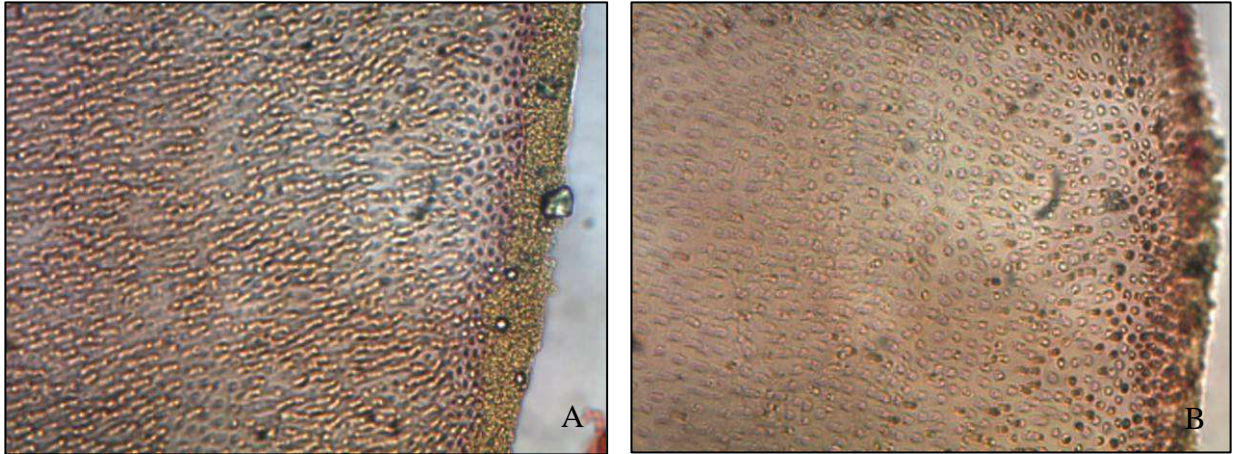


FIGURA 5: Penetração do cimento no interior dos túbulos dentinários, terços cervical (A) e médio (B). Técnica da condensação lateral + Sealepox. Coloração de Brown e Brenn, aumento original de 400x).

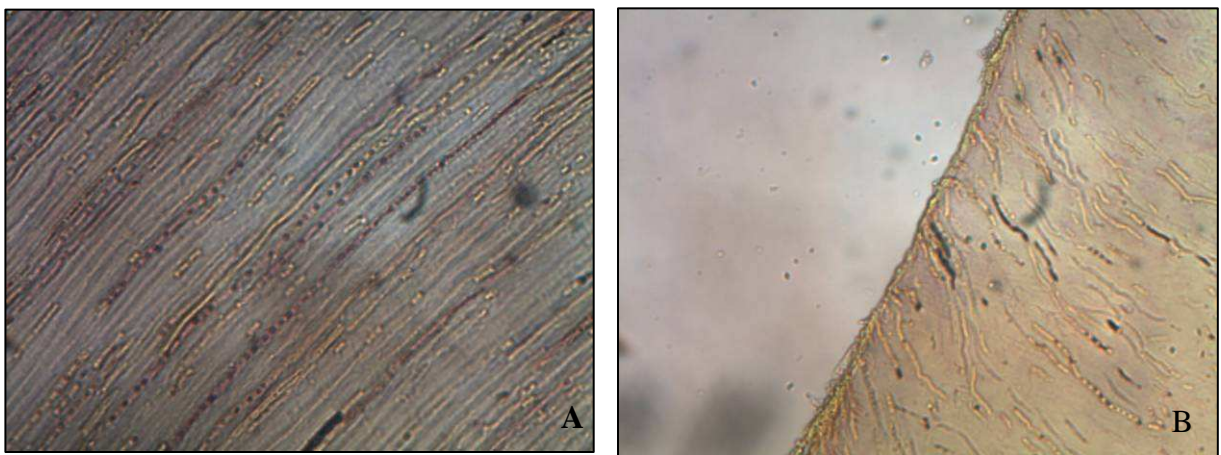


FIGURA 6: A- Bactérias no interior dos túbulos dentinários, terço cervical, B- terço apical. Técnica da compactação vertical + Sealepox (coloração de Brown e Brenn, aumento original de 400x).

5 Resultados

5 RESULTADOS

5.1 INFILTRAÇÃO BACTERIANA

Todos os remanescentes radiculares do grupo controle positivo apresentaram infiltração nas primeiras 24 horas. Nenhum espécime do grupo controle negativo apresentou infiltração bacteriana durante todo o período experimental, comprovando a eficácia da impermeabilização externa das raízes com o adesivo araldite.

Do total de 100 remanescentes radiculares utilizados no experimento, 7 foram descartados por terem apresentado contaminação do meio de cultura durante a montagem do aparato de infiltração, assim distribuídos: um de cada grupo, nos grupos 2, 4 e 6 e quatro do grupo 5.

Excluindo-se os espécimes dos grupos controle positivo e negativo, do total de 83 remanescentes radiculares, apenas 23 apresentaram infiltração durante o período experimental, sendo 13 espécimes nos primeiros 30 dias e 10 no segundo mês de avaliação.

Assim, no primeiro mês de observação, 13 espécimes apresentaram infiltração bacteriana, sendo que 8 dos grupos do cimento RealSeal, sendo 5 do grupo da condensação lateral e 3 da compactação vertical, apresentaram-na nas primeiras 48 horas; não ocorrendo infiltração em mais nenhum espécime durante o restante do período experimental, nestes grupos; 1 espécime do grupo 6 (cimento Sealepox e compactação vertical) apresentou infiltração após 72 horas da obturação. No segundo mês de avaliação apenas 10 espécimes apresentaram infiltração bacteriana.

A partir desses dados, a análise estatística foi realizada por meio do teste não paramétrico de Kruskal Wallis e do teste de Dunn para comparações individuais.

5.1.1 Avaliação entre todos os grupos

Na tabela 2 observa-se o número de espécimes que apresentaram infiltração, em relação ao número de dias observados (60 dias).

Não houve diferença estatística significativa entre os diferentes grupos, porém, observa-se que, nos espécimes dos grupos 3 (condensação lateral + RealSeal) e 4 (compactação vertical + RealSeal) a infiltração bacteriana ocorreu logo nos primeiros dias de observação. Já, os espécimes dos grupos 1, 2, 5 e 6 exibiram infiltração mais tardiamente, isto é, a partir do 17^o dia de observação, embora no grupo 6, 1 espécime tenha apresentado infiltração após 72 horas.

TABELA 2: Número de espécimes por grupo, que apresentaram infiltração durante o período experimental (60 dias).

| Grupos | Dias | | | | | | | | | | | | | | | | | Total |
|--------|------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 30 | 60 | |
| 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 | 3 | 5 |
| 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 | 2 |
| 3 | 4 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 5 |
| 4 | 2 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 3 |
| 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 1 | 2 |
| 6 | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 4 | 6 |

A tabela 3 exibe o número total de espécimes com ou sem infiltração e o tempo médio, em dias, para a ocorrência da infiltração, nos diferentes grupos testados.

A associação do cimento experimental Sealepox com a técnica da condensação lateral apresentou o maior tempo médio para ocorrência da infiltração (56,8), seguido pelos grupos do cimento AH Plus + compactação vertical (56,7), cimento AH Plus + condensação lateral (52,8), cimento Sealepox + compactação vertical (50,3), cimento Real Seal + compactação vertical (47,4) e por último, o cimento Real Seal + condensação lateral, que apresentou o menor tempo médio de infiltração coronária (40,4).

TABELA 3: Número total de espécimes, com ou sem infiltração, e tempo médio de infiltração (em dias), nos diferentes grupos avaliados.

| Grupos | Espécimes (N) | Com infiltração | Sem infiltração | Tempo médio de infiltração |
|---------------|----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 15 | 5 | 10 | 52,8 |
| 2 | 14 | 2 | 12 | 56,7 |
| 3 | 15 | 5 | 10 | 40,4 |
| 4 | 14 | 3 | 11 | 47,4 |
| 5 | 11 | 2 | 9 | 56,8 |
| 6 | 14 | 6 | 8 | 50,3 |

5.1.2 Avaliação entre os cimentos

A tabela 4 mostra o número e a porcentagem de espécimes com ou sem infiltração, considerando o cimento obturador utilizado.

Nos grupos experimentais 1 e 2, onde o cimento utilizado foi o AHPlus, de um total de 29 espécimes, 7 apresentaram infiltração durante o período experimental.

Nos grupos 3 e 4, cujos canais foram obturados com o cimento Real Seal, 8 espécimes apresentaram infiltração, de um total de 29 avaliados.

Os grupos 5 e 6 tiveram seus espécimes obturados pelo cimento experimental Sealepox, apresentando um total de 8 espécimes com infiltração, de um total de 25 espécimes avaliados.

TABELA 4: Número e porcentagem de espécimes com ou sem infiltração, em função do cimento obturador utilizado.

| Cimento obturador | Espécimes (N) | Com infiltração | Sem infiltração |
|--------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|
| AH Plus | 29 | 7 (24%) | 22 (76%) |
| Real Seal | 29 | 8 (27,5%) | 21 (72,5%) |
| Sealepox | 25 | 8 (32%) | 17 (68%) |

5.1.3 Avaliação entre as técnicas

Na tabela 5 observa-se o número e a porcentagem de espécimes com ou sem infiltração, em função da técnica de obturação empregada.

De um total de 41 espécimes obturados pela técnica da condensação lateral, 12 apresentaram infiltração após os 60 dias de experimento. Já, dos grupos obturados com a técnica da compactação vertical 11, dos 42 espécimes testados, permitiram infiltração.

TABELA 5: Número e porcentagem de espécimes com ou sem infiltração, em função da técnica obturadora utilizada.

| Técnicas de obturação | Espécimes (N) | Com infiltração | Sem infiltração |
|------------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|
| Condensação lateral | 41 | 12 (20,3%) | 29 (70,7%) |
| Compactação vertical | 42 | 11 (26,2%) | 31 (73,8%) |

5.2 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Do total de 90 espécimes dos grupos experimentais, 7 foram descartados devido à contaminação durante a montagem do aparato de infiltração, como descrito anteriormente. Outros quatro espécimes (um do grupo 1, um do grupo 3, um do grupo 4 e um do grupo 5) foram perdidos durante o processamento histológico.

Na Figura 7 estão expostas, graficamente, as porcentagens de espécimes que apresentaram a presença de bactérias nos canais radiculares, considerando os diferentes grupos experimentais. Do total de 79 remanescentes radiculares, 76 apresentaram bactérias em todo o canal radicular ou em áreas isoladas, totalizando 95,65% dos espécimes analisados.

Nos grupos do cimento AH Plus foram encontradas bactérias em 100% (14 de 14) dos remanescentes radiculares, independentemente da técnica obturadora utilizada. Tanto no grupo 1, cujos canais foram obturados pela técnica da condensação lateral, como no grupo 2, obturação com compactação vertical, a presença bacteriana foi constatada de maneira semelhante, isto é, 14 espécimes (100%) de cada grupo apresentaram bactérias no terço cervical e médio e 12 espécimes (85,7%) apresentaram-nas até no terço apical.

Nos grupos onde o cimento Real Seal foi utilizado, foram visualizadas bactérias em 85,7% (12 de 14) dos canais obturados com a técnica da condensação lateral, ficando assim distribuídos: 12 espécimes (85,7%) com bactérias no terço cervical, destes, 10 (71,4%) nos terços médio e apical. No grupo 4 onde os espécimes foram obturados pela técnica da compactação vertical, 13 espécimes (100%) tiveram bactérias localizadas no terço cervical, destes, 12 (92,3%) no terço médio e 11 (84,6%) no terço apical.

Nos grupos obturados pelo cimento experimental Sealepox, 100% (10 de 10) e 92,8% (13 de 14) dos remanescentes radiculares obturados pela condensação lateral e compactação vertical, respectivamente, apresentaram bactérias nos canais radiculares. No grupo 5, canais obturados pela técnica da condensação lateral, 10 espécimes (100%) apresentaram bactérias no terço cervical, destes, 9 (90%) no terço médio e 7 (70%) no terço apical. No grupo 6, onde a técnica da compactação vertical foi utilizada, 13 espécimes (92,8%) apresentaram bactérias no terço cervical, destes, 11 (78,5%) no terço médio e 9 (64,2%) no terço apical.

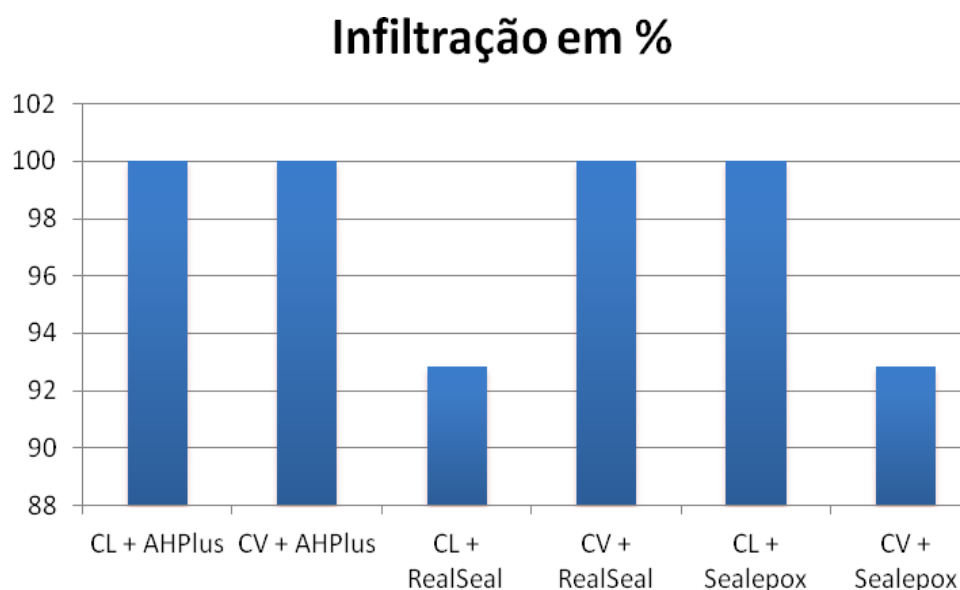


FIGURA 7: Representação gráfica (em %) do número de espécimes com presença bacteriana, nos diferentes grupos experimentais.

5.2.1 Penetração das bactérias nos túbulos dentinários

A penetração bacteriana nos túbulos dentinários foi avaliada por meio da atribuição de escores. O escore 0 foi atribuído aos casos com ausência de bactérias nas paredes do canal radicular e túbulos dentinários; escore 1 presença bacteriana limitada às paredes do canal radicular; escore 2 penetração bacteriana nos túbulos dentinários, porém, sem ultrapassar a metade da parede radicular; escore 3 quando houve penetração de uma pequena quantidade de bactérias para além da metade da parede radicular e, escore 4 quando uma grande quantidade de bactérias ultrapassou a metade da parede da raiz.

5.2.1.1 Terço cervical

Na Tabela 6 observa-se o número de espécimes que apresentaram bactérias no terço cervical, nos diferentes grupos e os escores médios de penetração bacteriana nos túbulos dentinários.

TABELA 6: Número de espécimes com ou sem bactérias no terço cervical e, escores médios da penetração bacteriana nos túbulos dentinários, nos diferentes grupos avaliados.

| Grupos | Amostras (N) | Com bactérias | Sem bactérias | Escores médios |
|---------------|---------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | 14 | 14 | 0 | 3,42 |
| 2 | 14 | 14 | 0 | 3,35 |
| 3 | 13 | 12 | 1 | 2,28 |
| 4 | 13 | 13 | 0 | 2,30 |
| 5 | 10 | 10 | 0 | 3,10 |
| 6 | 14 | 13 | 1 | 2,85 |

5.2.1.2 Terço médio

Na Tabela 7 observa-se o número de espécimes que apresentaram bactérias no terço médio, nos diferentes grupos e os escore médios de penetração bacteriana nos túbulos dentinários.

TABELA 7: Número de espécimes com ou sem bactérias no terço médio e, escores médios da penetração bacteriana nos túbulos dentinários, nos diferentes grupos avaliados.

| Grupos | Espécimes(N) | Com bactérias | Sem bactérias | Escores médios |
|---------------|---------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | 14 | 14 | 0 | 2,50 |
| 2 | 14 | 14 | 0 | 2,42 |
| 3 | 13 | 10 | 3 | 1,85 |
| 4 | 13 | 12 | 1 | 2,07 |
| 5 | 10 | 9 | 1 | 2,40 |
| 6 | 14 | 11 | 3 | 2,21 |

5.2.1.3 Terço apical

Na tabela 8 estão dispostos o número de espécimes que apresentaram bactérias no terço apical, nos diferentes grupos, e os escore médios de penetração bacteriana nos túbulos dentinários.

TABELA 8: Número de espécimes com ou sem bactérias no terço apical e, escores médios da penetração bacteriana nos túbulos dentinários, nos diferentes grupos avaliados.

| Grupos | Espécimes(N) | Com bactérias | Sem bactérias | Escore médios |
|---------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 1 | 14 | 12 | 2 | 2,21 |
| 2 | 14 | 12 | 2 | 1,78 |
| 3 | 13 | 10 | 3 | 1,50 |
| 4 | 13 | 11 | 2 | 1,69 |
| 5 | 10 | 7 | 3 | 2,00 |
| 6 | 14 | 9 | 5 | 1,78 |

5.2.1.4 Comparação entre os terços cervical, médio e apical

A comparação entre os terços cervical, médio e apical, realizada por meio do teste de Dunn, para comparações individuais, em relação à presença bacteriana, acusou diferença estatisticamente significativa ($P < 0.05$) entre os terços cervical e médio e entre os terços cervical e apical. Os valores da média e da mediana, referentes à contaminação dentinária foram: terço cervical (2,86 e 3,0); terço médio (2,241 e 2,0) e terço apical (1,82 e 2,0), respectivamente.

6 *Discussão*

6 DISCUSSÃO

O sucesso no tratamento endodôntico depende, em grande parte, dos cimentos obturadores, os quais têm um importante papel no selamento do sistema de canais radiculares, promovendo o sepultamento de micro-organismos remanescentes ao preparo e preenchendo áreas do canal radicular que são inacessíveis aos instrumentos, bem como suas ramificações (ØRSTAVIK, 2005). Desta maneira, as bactérias que resistiram ao tratamento químico e mecânico, ou mesmo ao curativo de demora, perecem devido à ausência de nutrientes.

Aliada do cimento endodôntico utilizado e da obturação dos canais radiculares, a qualidade da restauração, que será confeccionada após o tratamento endodôntico, é de extrema importância e pode influenciar sobremaneira no sucesso do tratamento.

6.1 Da metodologia

6.1.1 Preparo dos dentes

Para a realização do teste de infiltração bacteriana em canais radiculares o ideal seria que se trabalhasse “in vivo”, em dentes de humanos ou de animais, proporcionando uma maior aproximação da realidade clínica (BROSCO, 2006). Entretanto, inúmeras variáveis como: anatomia dos dentes, preparo biomecânico do canal radicular, materiais e técnicas de obturação e habilidade do operador são difíceis de serem controladas e podem influenciar nos resultados (ALVES; WALTON; DRAKE, 1998).

Vários estudos (BARTHEL, *et al.*, 2001; BALTO, 2002; BIGGS, *et al.*, 2006) “in vitro” têm sido realizados com a intenção de se avaliar a infiltração bacteriana. Entretanto, essas condições experimentais não reproduzem fielmente a ecologia da cavidade bucal. A mastigação, a mudança de temperatura, a microbiota oral, variações no fluxo salivar e a ação dos alimentos são apenas algumas das condições que são difíceis de serem reproduzidas em laboratório (KOPPER, *et al.*,

2003). Além disso, existem numerosas divergências nos resultados e, mínimo consenso quanto à melhor forma de se consegui-los.

Dentes humanos unirradiculados extraídos (MILETIĆ, *et al.*, 2002b; AL-HEZAIMI, *et al.*, 2005; MONTELLANO; SCHWARTZ; BEESON, 2006) foram selecionados para este experimento. Diversos grupos dentários têm sido utilizados para testes de infiltração bacteriana, entre eles os pré-molares inferiores (BAUMGARTNER; ZEHNDER; PAQUÉ, 2007), que foram utilizados neste trabalho.

Entre todos os grupos dentários, o grupo dos pré-molares inferiores é o que, normalmente, oferece a maior dificuldade, para se obter sucesso quando do tratamento endodôntico (SLOWEY, 1979). As possíveis razões são: a numerosa variação na morfologia dos canais radiculares e o difícil acesso aos canais adicionais, quando presentes (CLEGHORN; CHRISTIE; DONG, 2007).

Devido a esta variação na morfologia dos pré-molares, optamos por realizar radiografias periapicais de todos os dentes selecionados e, aqueles que apresentaram mais de um canal, curvaturas acentuadas ou calcificações, foram descartados.

A odontometria foi realizada visualmente, pela observação da extremidade da lima no forame apical (AL-DEWANI; HAYES; DUMMER, 2000; BROSCO, 2006), pela simplicidade, praticidade e alta confiabilidade na determinação do comprimento do dente.

A padronização do diâmetro do forame apical foi realizada instrumentando-se o canal, no seu comprimento total, até a lima manual de nº 25. A realização dessa manobra permitiu que a área de contato entre a obturação do canal e o meio de cultura fosse similar em todos os dentes (BROSCO, 2006).

Os canais radiculares foram preparados pelo mesmo operador, procurando-se, dessa maneira, evitar a inclusão de outras possíveis variáveis, provenientes da instrumentação por diferentes operadores. Realizada a instrumentação manual até a lima do tipo k nº 25, passou-se, então, à instrumentação rotatória com os instrumentos Pro Taper até o instrumento F5. O batente apical foi confeccionado um milímetro aquém do forame apical por ser essa, aproximadamente, a localização do limite CDC (cimento-dentina-canal) (LEONARDO, 2005). A cada troca de instrumento o canal era irrigado com 1 mL de hipoclorito de sódio a 1%.

Após a instrumentação, foi realizado o seccionamento das coroas dentárias, para padronização do comprimento dos espécimes, pois, de acordo com WU;

WESSELINK, (1993) o comprimento, assim como, a anatomia das raízes e o diâmetro dos forames, são variáveis que devem ser controladas. Inclusive, a planificação da face cervical da raiz, favorece as etapas posteriores do teste de infiltração.

Previamente à obturação, foi realizada irrigação dos canais radiculares com EDTA a 17%, durante três minutos, para remoção da smear layer (DAVALOU; GUTMANN; NUNN, 1999; AL-DEWANI; HAYES; DUMMER, 2000) .

O smear layer é proveniente do desgaste da dentina durante a instrumentação dos canais radiculares e se deposita nas paredes instrumentadas do canal. Ela é composta de substâncias orgânicas e inorgânicas, que incluem fragmentos de processos odontoblásticos, microorganismos e material necrótico. A smear layer é um produto infectado da instrumentação em casos de polpa contaminada podendo, inclusive, proteger as bactérias que permaneceram nos túbulos dentinários (PASHLEY, 1992). Por isso, é prudente remover a smear layer infectada dos canais radiculares, permitindo a penetração da medicação intracanal (TORABINEJAD, *et al.*, 2002) e do cimento obturador nos túbulos dentinários.

Para a realização da obturação, o cimento foi levado ao canal radicular de todos os dentes por meio da técnica controlada. Mesmo com a utilização desta técnica de assentamento do cone principal, em todos os espécimes foi observada uma pequena porção de cimento, que extravasou via forame apical, indicando que toda extensão do canal radicular foi preenchida, e o desbridamento do forame foi realizado de maneira correta. Caso contrário, poderia haver interferência no teste de infiltração.

Entre as técnicas obturadoras utilizadas, a condensação lateral, ainda hoje, é a técnica de obturação dos canais radiculares mais amplamente utilizada na Endodontia (JACOBSON, *et al.*, 2002). Por isso, esta foi a técnica de escolha para a metade dos grupos testados, neste experimento.

Nos outros grupos, a opção recaiu sobre a técnica da compactação vertical da guta-percha aquecida (POMMEL.; CAMPS, 2001; JACOBSON, *et al.*, 2002), realizada com o aparelho Elements, que agrega o aparelho System B para a obturação do terço apical e um injetor de guta-percha termo-aquecida, para o preenchimento dos terços médio e cervical dos canais radiculares.

Diversas tentativas para simplificar a técnica de termo-compactação da guta-percha têm sido feitas, entre elas, o surgimento de pistolas injetoras de guta-percha

e o aparelho Touch`n Heat, introduzido em 1982 pela Analytic Technology (Orange, CA). Mais recentemente, um novo método de preenchimento dos canais radiculares foi introduzido por S. Buchanan, o System B (Analytic Technology, Orange, CA, EUA). De acordo com o fabricante, é um método mais rápido, fácil e mais eficiente do que a técnica da compactação vertical aquecida (BUCHANAN, 1996).

Complementando-se a obturação do terço apical, realizada com o auxílio do aparelho System B, a pistola injetora de guta-percha foi utilizada para preenchimentos dos terços médio e cervical, como realizado por diferentes autores (JACOBSON, *et al.*, 2002; LEA, *et al.*, 2005).

Para avaliação da eficácia dos cimentos endodônticos, frente à penetração bacteriana, inúmeros trabalhos (PADACHEY, *et al.*, 2000; SHIPPER, *et al.*, 2004; PINHEIRO, *et al.*, 2009) já foram realizados, porém, a intenção deste experimento foi comparar a eficácia do cimento experimental Sealepox, desenvolvido pelo Prof. Dr. Ivaldo Gomes de Moraes, na Faculdade de Odontologia de Bauru, com a dos cimentos obturadores AH Plus e Real Seal, cimentos estes já disponíveis comercialmente. O cimento AHPlus é considerado como padrão ouro para comparações, por suas boas propriedades. Diversos estudos encontrados na literatura (SILVA-NETO, 2003; PEÑA, 2006; OROSCO, 2007) testaram o cimento experimental MBP, antecessor do Sealepox, porém, apenas um, avaliou a sua capacidade seladora em obturações retrógradas (MEDEIROS, 2009). Neste trabalho, o autor comparou a capacidade seladora dos cimentos MTA Angelus Branco, MBPc (antecessor do Sealepox), CPM e Pasta Lysanda frente à infiltração bacteriana por *Enterococcus faecalis*, observando que os cimentos MBPc, MTA Angelus Branco e CPM mostraram capacidade seladora eficaz.

Os cimentos utilizados nesse estudo possuem muitas das propriedades seladoras necessárias a um material obturador. Em se tratando dos cimentos RealSeal e Sealepox, mais pesquisas se fazem necessárias, pela escassez de trabalhos na literatura. Por isso, o presente trabalho, pretendeu contribuir nesse sentido.

6.1.2 Infiltração bacteriana nos canais radiculares

Mesmo sabendo-se que, os métodos de penetração de corantes ou de fluidos são fáceis e simples para se avaliar a infiltração, existem algumas restrições para a aplicação dos mesmos (BROSCO, *et al.*, 2008), como desafios relacionados à natureza do material utilizado (radioisótopos, corantes líquidos, transporte de fluidos) havendo diferença no tamanho das moléculas, viscosidade, tensão superficial ou descoloração, podendo influenciar a detecção do corante ou a sua capacidade de penetração (SWANSON; MADISON, 1987; TORABINEJAD; UNG; KETTERING, 1990; POMMEL, L.; JACQUOT; CAMPS, 2001). Por isso, a avaliação da infiltração por meio da penetração bacteriana aparenta ter maior relevância clínica (YÜCEL, *et al.*, 2006).

Na avaliação da capacidade seladora por meio da infiltração bacteriana, um meio de cultura inoculado com um micro-organismo rastreador, no caso, o *Enterococcus faecalis* é colocado em contato a porção coronária da raiz (PADACHEY, *et al.*, 2000; BAUMGARTNER; ZEHNDER; PAQUÉ, 2007; BROSCO, V., *et al.*, 2008; TAŞDEMİR, *et al.*, 2009) e a porção apical é colocada em contato com o mesmo meio de cultura, porém estéril. Quando esse meio de cultura, estéril, torna-se turvo (TORABINEJAD; UNG; KETTERING, 1990; WILLIAMSON, *et al.*, 2009) ou tem a sua coloração alterada (TAŞDEMİR, *et al.*, 2009) indica que a bactéria penetrou toda a extensão do canal, vencendo a barreira imposta pela obturação e alcançou o meio de cultura estéril.

A substituição do caldo de BHI inoculado, por um novo caldo BHI contendo micro-organismos, é a técnica mais utilizada por diferentes autores, daí, a opção por fazê-la semanalmente. BROSCO, (2006) realizou, sequencialmente, o teste de viabilidade das bactérias em seus espécimes de maneira que, ao término do período experimental, todos eles haviam sido avaliados, mostrando ser adequada a troca semanal do caldo BHI, para a manutenção da viabilidade bacteriana.

Sete espécimes foram descartados devido à contaminação do meio de cultura durante a montagem do dispositivo para o teste de infiltração, como no trabalho de TIMPAWAT; AMORNCHAT; TRISUWAN, 2001 que descartaram 10 de 75 elementos, também devido à contaminação do aparato de infiltração.

Outros 4 espécimes foram descartados durante o processamento histológico, totalizando 11 raízes descartadas durante todo o período experimental.

Neste trabalho, a união do remanescente radicular com o eppendorf e do eppendorf com a tampa do frasco de penicilina foi feita com cola araldite. Apesar desse passo ter sido realizado com extremo cuidado, o fato do adesivo araldite ser transparente faz com que a visualização de bolhas, ou pequenos espaços vazios seja prejudicada.

Dessa forma, os casos que apresentaram infiltração nas primeiras 72 horas, foram rastreados com corante azul de metileno (BROSCO, 2006). Caso o corante saísse pelo forame apical denotaria infiltração via canal. Se houvesse falha na camada impermeabilizadora com araldite, esta seria facilmente detectada nos primeiros dias. Nenhum dos espécimes que sofreram infiltração bacteriana nas primeiras 72 horas, apresentou infiltração do corante pela camada impermeabilizadora, demonstrando que a infiltração ocorreu via canal.

6.1.3 Análise histológica

Apesar do teste de infiltração bacteriana ser muito utilizado para a avaliação da capacidade seladora dos cimentos endodônticos e técnicas de obturação, não existem muitos estudos avaliando a presença de bactérias nos canais radiculares e túbulos dentinários de dentes submetidos aos testes de infiltração (BROSCO, *et al.*, 2010).

Entre os métodos disponíveis para se investigar a infecção endodôntica, a coloração de Brown e Brenn é uma técnica que oferece informações sobre a localização topográfica das bactérias nos tecidos, além da morfologia e estrutura Gram-positiva ou Gram-negativa dos micro-organismos (MATSUO, *et al.*, 2003; LEONARDO, *et al.*, 1994). Apresenta algumas desvantagens, entre elas, o fato de que, a estrutura da bactéria pode desaparecer durante o processamento das amostras, por exemplo, no período de descalcificação.

Para o processamento histológico, é necessário submeter os espécimes à desmineralização. Diversas substâncias são utilizadas para esse fim: ácido fórmico, solução de Morse e EDTA. Optou-se pela utilização da solução de Morse, por apresentar a vantagem de realizar a desmineralização em um curto período de tempo. Segundo WIJNBERGEN; VAN MULLEM, (1987) quando o ácido fórmico é utilizado como agente desmineralizante, de um total de 15 bactérias apenas uma é corada.

Para a obtenção das lâminas, foi decidido pelo seccionamento longitudinal dos remanescentes radiculares, para obtenção de uma visão mais ampla da raiz, englobando os terços cervical, médio e apical. Porém, ao se optar pelo seccionamento longitudinal, obtém-se uma amostra não acurada dos espécimes por se tratar apenas de uma pequena área das raízes infectadas (MATSUO, *et al.*, 2003).

Um microscópio óptico munido com uma objetiva 40 foi utilizado para a leitura das lâminas. Nos casos onde houve dúvidas quanto à morfologia exata do *Enterococcus faecalis*, um aumento de 1000 vezes se fez necessário para a diferenciação com outras partículas presentes, como corante ou cimento obturador.

6.2 Dos resultados

6.2.1 Teste de infiltração bacteriana

É extremamente difícil comparar os resultados obtidos em diferentes estudos de infiltração. Para BARRIESHI, *et al.*, (1997) a técnica de preparo dos canais radiculares, materiais e técnica de obturação, quantidade de material obturador remanescente nos canais, modelo do dispositivo para avaliação da infiltração, técnicas de esterilização, método de detecção da infiltração bacteriana, anatomia do dente e, ainda, o tamanho da amostra podem provocar variáveis que influenciam nos resultados obtidos.

Os resultados deste estudo concordam com os encontrados nos estudos de BAUMGARTNER; ZEHNDER; PAQUÉ, (2007); BROSCO, *et al.*, (2008); ELDENIZ; ØRSTAVIK, (2009), onde baixos índices de infiltração foram observados. Porém, discorda de trabalhos como SIQUEIRA, *et al.*, (2001); YÜCEL, *et al.*, (2006); FRANSEN, *et al.*, (2008) que apresentaram um alto índice de infiltração dos espécimes ao final do período experimental.

Neste estudo, o tempo médio para a infiltração dos espécimes foi de aproximadamente 50 dias, enquanto nos trabalhos de KHAYAT; LEE; TORABINEJAD, (1993); CARRATÙ, *et al.*, (2002); MUÑOZ, *et al.*, (2007) os tempos médios de infiltração foram de 15-17 dias; 27 dias e 10 dias, respectivamente.

O número de espécimes que apresentaram infiltração nos diferentes grupos foi similar, independente da técnica obturadora utilizada, não havendo diferença estatisticamente significativa.

Existem inúmeros trabalhos na literatura que avaliaram a infiltração bacteriana de canais radiculares obturados, no entanto, trabalhos que testaram as técnicas de obturação utilizadas, neste estudo, são escassos, o que torna difícil a comparação e discussão dos resultados.

Os resultados obtidos por alguns autores (SIQUEIRA, *et al.*, 1999; CARRATÙ, *et al.*, 2002; JACOBSON, *et al.*, 2002) corroboram com os resultados deste estudo, pois, não encontraram diferença estatisticamente significativa entre a infiltração coronária permitida pela técnica da condensação lateral e pela técnica da compactação vertical aquecida, realizada com o System B. Entretanto, GILBERT; WITHERSPOON; BERRY, (2001) observaram que a técnica da condensação vertical aquecida apresentou menor infiltração bacteriana quando comparada com a condensação lateral. Já, PITOUT, *et al.*, (2006) observaram melhores resultados quando a técnica da condensação lateral foi empregada.

Em relação à infiltração bacteriana utilizando-se diferentes cimentos também não se observou diferença estatisticamente significativa entre os diferentes grupos. Porém, observa-se que, os grupos 3 e 4, onde o cimento obturador utilizado foi o RealSeal, a penetração bacteriana ocorreu logo nos primeiros dias de observação.

A falta de adesão do cimento obturador às paredes do canal radicular, devido à contração de polimerização sofrida pelo cimento Epiphany/RealSeal associado ao Resilon, pode ser a causa da formação de espaços que permitem a penetração de bactérias. Além disso, o tempo de presa, solubilidade, degradação hidrolítica (WILLIAMSON, *et al.*, 2009) e alterações dimensionais são preocupações que surgem quando da utilização dos sistemas resinosos, como o RealSeal (VERSIANI, *et al.*, 2006).

Neste estudo, observou-se que, a utilização do sistema com cone resinoso, para obturação dos canais radiculares, não apresentou vantagens sobre o uso da guta-percha/cimentos de resina epóxica, como observado nos trabalhos de BAUMGARTNER; ZEHNDER; PAQUÉ, (2007); PINHEIRO, *et al.*, (2009), demonstrando não haver a formação do monobloco.

6.2.2 Análise histológica

As lâminas dos dois dentes cariados, utilizados como controle para a coloração Brown e Brenn, apresentaram bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, na região próxima ao tecido cariado e no interior dos túbulos dentinários, evidenciando desta maneira, que a coloração foi realizada de maneira adequada.

O número de espécimes que apresentaram infiltração bacteriana total, isto é, que turvaram o meio de cultura, anteriormente estéril, e que está expresso na tabela 2, foi bem menor do que o número de raízes que apresentaram presença bacteriana na dentina e túbulos dentinários, identificada microscopicamente (Figura 1). Foi possível constatar a presença bacteriana, no interior do canal radicular em 76 espécimes de um total de 79, ou seja, em 96,65% dos espécimes avaliados, contra 23 espécimes ou 27,7% no teste de infiltração. Como nem todos os espécimes apresentaram infiltração isso significa que, a presença das bactérias não promove obrigatoriamente a turvação do meio de cultura, pois, podem não estar viáveis, conforme descrito por BROSCO, (2006), ou o número de bactérias que atingiram o meio, não foi suficiente para causar a sua turvação.

Ainda, de acordo com BROSCO, (2006) isso, provavelmente, ocorre porque a infiltração coronária só pode ser detectada se os micro-organismos infiltrarem pelo canal radicular, atingirem o meio de cultura em contato com a porção apical e se multiplicarem, turvando o meio de cultura.

A grande quantidade de bactérias encontradas na análise histológica pode ser explicada pelo fato de que, em neste trabalho, optou-se por realizar a troca do meio de cultura por um novo meio inoculado com micro-organismos, como nos trabalhos de PADACHEY, *et al.*, (2000); MAVEC, *et al.*, (2006); MONTELLANO; SCHWARTZ; BEESON, (2006), porém, contrário aos estudos realizados por BROSCO, *et al.*, (2008); PINHEIRO, *et al.*, (2009) que optaram por trocar apenas os nutrientes das bactérias (inserindo caldo de BHI estéril), por considerar a introdução semanal de novos micro-organismos uma condição extrema, A penetração nos túbulos dentinários foi maior no terço cervical do que nos terços médio e apical, como no trabalho de MATSUO, *et al.*, (2003) que observaram presença bacteriana significativamente maior, nos túbulos dentinários, no terço cervical do que no terço apical de dentes infectados. RICUCCI; BERGENHOLTZ (2003) observaram grande quantidade de bactérias no terço cervical e túbulos

dentinários, enquanto, nos terços médio e apical as bactérias eram ausentes, na grande maioria dos espécimes avaliados.

Microscopicamente foi possível observar que os túbulos dentinários não eram invadidos da mesma forma pelas bactérias. Alguns túbulos eram invadidos por uma grande quantidade de bactérias, enquanto outros adjacentes permaneciam vazios. Esses achados também foram observados nos trabalhos de SEDGLEY; LENNAN; APPELBE, (2005); BROSCO, *et al.*, (2010).

Frente a esses resultados deduz-se que há uma limitação do teste de infiltração bacteriana, pois, muitas vezes, o canal radicular estava totalmente infectado, mas as bactérias não turvaram o meio de cultura, apresentando um resultado falso-negativo da infiltração bacteriana.

6.3 Considerações finais

Embora as pesquisas realizadas em laboratório possuam suas limitações próprias e, definitivamente, não podem ter seus resultados extrapolados diretamente para a clínica, na maioria das vezes, são elas que oferecem subsídios para a orientação da aplicação de protocolos de atendimentos clínicos.

Sem dúvida, quando técnicas ou determinados materiais são submetidos a testes de laboratório, suas capacidades ou propriedades são testadas ao extremo. Portanto, o comportamento desses materiais ou técnicas, encontrado nessas condições, pode ser diferente, quando aplicados diretamente in vivo.

O teste de infiltração bacteriana realizado nos moldes deste trabalho, onde a bactéria é inoculada em um meio muito propício ao seu crescimento, que é aplicado diretamente contra a obturação do canal radicular, sem qualquer proteção de uma restauração e, especificamente, neste trabalho, onde as bactérias eram substituídas semanalmente, realmente é uma condição extrema.

Neste trabalho, a realização da análise histológica, complementando o teste de infiltração bacteriana, possibilitou observar que o fato de não ocorrer a turvação do meio estéril, onde se encontra imerso o ápice radicular do espécime testado não é garantia de que o canal não está contaminado. Assim, talvez, a turvação do meio possa ocorrer algum tempo depois.

Para que a turvação ocorra, obrigatoriamente há a necessidade da reprodução bacteriana. Portanto, a simples observação da presença de bactérias no

interior dos canais radiculares, seja em suas paredes ou no interior dos túbulos dentinários, não traz a certeza de que tais bactérias estejam viáveis e aptas à reprodução. Portanto, alguns fatores devem ser tidos em consideração quando são analisados os resultados de trabalhos desta natureza. O primeiro fator seria quanto à penetração bacteriana naqueles casos onde as mesmas foram detectadas, em quase 100% dos espécimes, considerando se houve penetração em toda a extensão da obturação ou parte dela; que terço do canal houve maior concentração da população bacteriana. São considerados fatores importantes, pois, embora, a renovação semanal do meio inoculado com as bactérias, possa ter favorecido a infiltração bacteriana, a não turvação do meio, na maior parte dos espécimes, talvez, possa estar associada, realmente, à não viabilidade bacteriana. Neste caso, a atividade antibacteriana do próprio cimento deve ser levada em consideração, além do selamento propiciado tanto pelos cimentos, bem como, pelas técnicas obturadoras.

Considerando as duas análises realizadas, ficam as constatações de que apenas o teste de infiltração bacteriana não é suficientemente preciso para permitir concluir definitivamente que um determinado material apresenta, por exemplo, uma capacidade seladora superior, pois, tal selamento pode estar ocorrendo em função de sua propriedade antibacteriana; e que a não turvação do meio não é prova de que aquela obturação não tenha permitido a invasão de micro-organismos.

7 Conclusões

7 CONCLUSÕES

Considerando a metodologia empregada e os resultados encontrados neste estudo, pode-se concluir que:

1. Os cimentos endodônticos, independente da técnica obturadora utilizada, não foram capazes de prevenir a infiltração bacteriana.
 2. A análise histológica demonstrou ser efetiva para se analisar a presença bacteriana e o grau de profundidade de penetração das bactérias ao longo do canal radicular e interior dos túbulos dentinários.
 3. A técnica da infiltração bacteriana avaliada pela penetração bacteriana demonstrou ser uma metodologia falha para a análise do selamento proporcionado por obturações de canais radiculares.
-

Referências

REFERÊNCIAS

Al-Dewani N, Hayes SJ, Dummer PM. Comparison of laterally condensed and low-temperature thermoplasticized gutta-percha root fillings. *J Endod.* 2000;26(12):733-8.

Al-Hezaimi K, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon J, Rotstein I. Human saliva penetration of root canals obturated with two types of mineral trioxide aggregate cements. *J Endod.* 2005;31(6):453-6.

Alves J, Walton R, Drake D. Coronal leakage: endotoxin penetration from mixed bacterial communities through obturated, post-prepared root canals. *J Endod.* 1998;24(9):587-91.

Anić I, Matsumoto K. Dentinal heat transmission induced by a laser-softened gutta-percha obturation technique. *J Endod.* 1995;21(9):470-4.

Balto H. An assessment of microbial coronal leakage of temporary filling materials in endodontically treated teeth. *J Endod.* 2002;28(11):762-4.

Barrieshi KM, Walton RE, Johnson WT, Drake DR. Coronal leakage of mixed anaerobic bacteria after obturation and post space preparation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997;84(3):310-4.

Barthel C, Zimmer S, Wussogk R, Roulet J. Long-Term bacterial leakage along obturated roots restored with temporary and adhesive fillings. *J Endod.* 2001;27(9):559-62.

Baumgartner G, Zehnder M, Paqué F. Enterococcus faecalis type strain leakage through root canals filled with Gutta-Percha/AH plus or Resilon/Epiphany. *J Endod.* 2007;33(1):45-7.

Biggs S, Knowles K, Ibarrola J, Pashley D. An in vitro assessment of the sealing ability of resilon/epiphany using fluid filtration. *J Endod.* 2006;32(8):759-61.

Bowman C, Baumgartner J. Gutta-percha obturation of lateral grooves and depressions. *J Endod.* 2002;28(3):220-3.

Bramante C, Berbert A, Piccino A. [A technique of lateral condensation for filling root canals with gutta-percha points]. *Estomatol Cult.* 1972;6(1):70-2.

Brayton S, Davis S, Goldman M. Gutta-percha root canal fillings. An in vitro analysis. I. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1973;35(2):226-31.

Brosco V, Bernardineli N, Torres S, Consolaro A, Bramante C, de Moraes I, et al. Bacterial leakage in root canals obturated by different techniques. Part 1: microbiologic evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;105(1):e48-53.

Brosco V, Bernardineli N, Torres S, Consolaro A, Bramante C, de Moraes I, et al. Bacterial leakage in obturated root canals-part 2: a comparative histologic and microbiologic analyses. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109(5):788-94.

Brosco VH. **Avaliação "in vitro" da infiltração bacteriana em canais radiculares obturados por diferentes técnicas.** 2006. 213 p. Tese (Tese de Doutorado) - Faculdade de Odontologia. Universidade de São Paulo, Bauru.

Brothman P. A comparative study of the vertical and the lateral condensation of gutta-percha. *J Endod.* 1981;7(1):27-30.

Buchanan LS. The continuous wave of obturation technique: 'centered' condensation of warm gutta percha in 12 seconds. *Dent Today.* 1996;15(1):60-2, 4-7.

Carratù P, Amato M, Riccitiello F, Rengo S. Evaluation of leakage of bacteria and endotoxins in teeth treated endodontically by two different techniques. *J Endod.* 2002;28(4):272-5.

Chailertvanitkul P, Saunders W, Mackenzie D. An assessment of microbial coronal leakage in teeth root filled with gutta-percha and three different sealers. *Int Endod J.* 1996;29(6):387-92.

Chailertvanitkul P, Saunders W, MacKenzie D. Coronal leakage of obturated root canals after long-term storage using a polymicrobial marker. *J Endod.* 1997;23(10):610-3.

Cleghorn B, Christie W, Dong C. The root and root canal morphology of the human mandibular first premolar: a literature review. *J Endod.* 2007;33(5):509-16.

Davalou S, Gutmann JL, Nunn MH. Assessment of apical and coronal root canal seals using contemporary endodontic obturation and restorative materials and techniques. *Int Endod J.* 1999;32(5):388-96.

Eldeniz A, Ørstavik D. A laboratory assessment of coronal bacterial leakage in root canals filled with new and conventional sealers. *Int Endod J.* 2009;42(4):303-12.

Floren J, Weller R, Pashley D, Kimbrough W. Changes in root surface temperatures with in vitro use of the system B HeatSource. *J Endod.* 1999;25(9):593-5.

Fransen J, He J, Glickman G, Rios A, Shulman J, Honeyman A. Comparative assessment of ActiV GP/glass ionomer sealer, Resilon/Epiphany, and gutta-percha/AH plus obturation: a bacterial leakage study. *J Endod.* 2008;34(6):725-7.

Gençoğlu N. Comparison of 6 different gutta-percha techniques (part II): Thermafil, JS Quick-Fill, Soft Core, Microseal, System B, and lateral condensation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;96(1):91-5.

Gilbert S, Witherspoon D, Berry C. Coronal leakage following three obturation techniques. *Int Endod J.* 2001;34(4):293-9.

Grossman L. An improved root canal cement. *J Am Dent Assoc.* 1958;56(3):381-5.

Grossman L. Antimicrobial effect of root canal cements. *J Endod.* 1980;6(6):594-7.

Hirai V, da Silva Neto U, Westphalen V, Perin C, Carneiro E, Fariniuk L. Comparative analysis of leakage in root canal fillings performed with gutta-percha and Resilon cones with AH Plus and Epiphany sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109(2):e131-5.

Holland R. Avaliação da eficiência do selamento marginal de obturações de canal – influência de variáveis introduzidas no método de condensação lateral. *Rev Gauch Odontol.* 1975;23(4):247-52.

Holland R, de Souza V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. *J Endod.* 1985;11(12):535-43.

Hommez GM, Coppens CR, De Moor RJ. Periapical health related to the quality of coronal restorations and root fillings. *Int Endod J.* 2002;35(8):680-9.

Jacobson H, Xia T, Baumgartner J, Marshall J, Beeler W. Microbial leakage evaluation of the continuous wave of condensation. *J Endod.* 2002;28(4):269-71.

Jenkins S, Kulild J, Williams K, Lyons W, Lee C. Sealing ability of three materials in the orifice of root canal systems obturated with gutta-percha. *J Endod.* 2006;32(3):225-7.

Johnson BT, Bond MS. Leakage associated with single or multiple increment backfill with the Obtura II gutta-percha system. *J Endod.* 1999;25(9):613-4.

Karabucak B, Kim A, Chen V, Iqbal M. The comparison of gutta-percha and Resilon penetration into lateral canals with different thermoplastic delivery systems. *J Endod.* 2008;34(7):847-9.

Karagenç B, Gençoglu N, Ersoy M, Cansever G, Külekçi G. A comparison of four different microleakage tests for assessment of leakage of root canal fillings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102(1):110-3.

Khayat A, Lee S, Torabinejad M. Human saliva penetration of coronally unsealed obturated root canals. *J Endod.* 1993;19(9):458-61.

Kopper P, Figueiredo J, Della Bona A, Vanni J, Bier C, Bopp S. Comparative in vivo analysis of the sealing ability of three endodontic sealers in post-prepared root canals. *Int Endod J.* 2003;36(12):857-63.

Lea C, Apicella M, Mines P, Yancich P, Parker M. Comparison of the obturation density of cold lateral compaction versus warm vertical compaction using the continuous wave of condensation technique. *J Endod.* 2005;31(1):37-9.

Leonardo MR. *Endodontia: tratamento de canais radiculares, princípios técnicos e biológicos.* 9 ed. São Paulo: Artes Médicas; 2007.

Leonardo MR, Almeida WA, Ito IY, da Silva LA. Radiographic and microbiologic evaluation of post treatment apical and periapical repair of root canals of dogs` teeth with experimentally induced chronic lesion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;78:232-8.

Leonardo MR; Leonardo RT. Endodontia. 1 ed. São Paulo: Artes Médicas; 2009.

Levitan M, Himel V, Luckey J. The effect of insertion rates on fill length and adaptation of a thermoplasticized gutta-percha technique. J Endod. 2003;29(8):505-8.

Lipski M. Root surface temperature rises during root canal obturation, in vitro, by the continuous wave of condensation technique using System B HeatSource. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005;99(4):505-10.

Love RM. Enterococcus faecalis--a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J. 2001;34(5):399-405.

Matsuo T, Shirakami T, Ozaki K, Nakanishi T, Yumoto H, Ebisu S. An immunohistological study of the localization of bacteria invading root pulpal walls of teeth with periapical lesions. J Endod. 2003;29(3):194-200.

Mavec J, McClanahan S, Minah G, Johnson J, Blundell RJ. Effects of an intracanal glass ionomer barrier on coronal microleakage in teeth with post space. J Endod. 2006;32(2):120-2.

McRobert A, Lumley P. An in vitro investigation of coronal leakage with three gutta-percha backfilling techniques. Int Endod J. 1997;30(6):413-7.

Medeiros PL. **Avaliação comparativa "in vitro" da capacidade seladora do cimento MBPc, CPM, MTA Angelus® branco e pasta Lysanda® à infiltração bacteriana em obturações retrógradas.** 2009. 186 p. (Dissertação de Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru -Universidade de São Paulo, Bauru.

Meister F, Jr., Lommel TJ, Gerstein H. Diagnosis and possible causes of vertical root fractures. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1980;49(3):243-53.

Miletić I, Prpić-Mehićić G, Marsan T, Tambić-Andrasević A, Plesko S, Karlović Z, et al. Bacterial and fungal microleakage of AH26 and AH Plus root canal sealers. Int Endod J. 2002a;35(5):428-32.

Miletić I, Ribarić S, Karlović Z, Jukić S, Bosnjak A, Anić I. Apical leakage of five root canal sealers after one year of storage. J Endod. 2002b;28(6):431-2.

Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998;31(1):1-7.

Montellano A, Schwartz S, Beeson T. Contamination of tooth-colored mineral trioxide aggregate used as a root-end filling material: a bacterial leakage study. *J Endod.* 2006;32(5):452-5.

Moraes SH, Hollanda EM de. Condensação lateral em Endodontia: avaliação da infiltração marginal nas técnicas passiva e ativa. *Rev. Gauch Odontol.* 1985;33(3):206-8.

Muñoz H, Saravia-Lemus G, Florián W, Lainfiesta J. Microbial leakage of *Enterococcus faecalis* after post space preparation in teeth filled in vivo with RealSeal versus Gutta-percha. *J Endod.* 2007;33(6):673-5.

Nelson E, Liewehr F, West L. Increased density of gutta-percha using a controlled heat instrument with lateral condensation. *J Endod.* 2000;26(12):748-50.

Orosco FA. **Análise da capacidade seladora e adaptação marginal de tampões apicais confeccionados com diferentes materiais, sob a influência de três técnicas de obturação de canais radiculares.** 2007. 140 p. (Dissertação de Mestrado) - Faculdade de Odontologia. Universidade de São Paulo, Bauru.

Ørstavik D. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. *Endod Topics.* 2005;12:25v38.

Ørstavik D, Nordahl I, Tibballs J. Dimensional change following setting of root canal sealer materials. *Dent Mater.* 2001;17(6):512-9.

Padachey N, Patel V, Santerre P, Cvitkovitch D, Lawrence H, Friedman S. Resistance of a novel root canal sealer to bacterial ingress in vitro. *J Endod.* 2000;26(11):656-9.

Paqué F, Sirtes G. Apical sealing ability of Resilon/Epiphany versus gutta-percha/AH Plus: immediate and 16-months leakage. *Int Endod J.* 2007;40(9):722-9.

Pashley D. Smear layer: overview of structure and function. *Proc Finn Dent Soc.* 1992;88 (Suppl):215-24.

Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J*. 2001;34:429-34.

Peña M. **Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de cimentos endodônticos que contém hidróxido de cálcio**. 2006. p. (Especialização em Odontologia) - Universidade de Maringá, Bauru.

Peng L, Ye L, Tan H, Zhou X. Outcome of root canal obturation by warm gutta-percha versus cold lateral condensation: a meta-analysis. *J Endod*. 2007;33(2):106-9.

Peters C, Sonntag D, Peters O. Homogeneity of root canal fillings performed by undergraduate students with warm vertical and cold lateral techniques. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010;110(3):e41-9.

Pinheiro C, Guinesi A, de Camargo E, Pizzolitto A, Filho I. Bacterial leakage evaluation of root canals filled with different endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(6):e56-60.

Pitout E, Oberholzer T, Blignaut E, Molepo J. Coronal leakage of teeth root-filled with gutta-percha or Resilon root canal filling material. *J Endod*. 2006;32(9):879-81.

Pommel L, About I, Pashley D, Camps J. Apical leakage of four endodontic sealers. *J Endod*. 2003;29(3):208-10.

Ray HA, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J*. 1995;28(1):12-8.

Ricucci D, Bergenholtz G. Bacterial status in root-filled teeth exposed to the oral environment by loss of restoration and fracture of caries – a histobacteriological study of treated cases. *Int Endod J*. 2003;36:782-802.

Rôças I, Siqueira JJ, Santos K. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod*. 2004;30(5):315-20.

Salz U, Poppe D, Sbicego S, Roulet J. Sealing properties of a new root canal sealer. *Int Endod J*. 2009;42(12):1084-9.

Sauáia T, Gomes B, Pinheiro E, Zaia A, Ferraz C, Souza-Filho F. Microleakage evaluation of intraorifice sealing materials in endodontically treated teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102(2):242-6.

Schilder H. Filling root canals in three dimensions. *Dent Clin North Am.* 1967;7:23-44.

Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J.* 2005;38(10):735-42.

Shipper G, Ørstavik D, Teixeira F, Trope M. An evaluation of microbial leakage in roots filled with a thermoplastic synthetic polymer-based root canal filling material (Resilon). *J Endod.* 2004;30(5):342-7.

Silva Neto U, Moraes I. Capacidade seladora proporcionada por alguns materiais quando utilizados em perfurações na região de furca de molares humanos extraídos. *J Appl Oral Sci.* 2003;11(1):27-33.

Silva-Neto UX. **Infiltração coronária em obturações de canais radiculares realizadas com diferentes cimentos endodônticos resinosos: avaliação pelo método de filtração de fluido.** 2005. 116 p. (Tese de Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo, Bauru.

Siqueira DCR et al. Avaliação da infiltração bacteriana de cimentos utilizados na retrobturação. **Braz Oral Res**, São Paulo, v.18, p.162, Supplement (Proceedings of the 21^a Annual SBPqO Meeting) 2004. Resumo Pa 230. Apresentado na 21^a Reunião Annual da SBPqO, Águas de Lindóia, set. 2004.

Siqueira JJ, Rôças I, Abad E, Castro A, Gahyva S, Favieri A. Ability of three root-end filling materials to prevent bacterial leakage. *J Endod.* 2001;27(11):673-5.

Siqueira JJ, Rôças I, Lopes H, de Uzeda M. Coronal leakage of two root canal sealers containing calcium hydroxide after exposure to human saliva. *J Endod.* 1999;25(1):14-6.

Skinner R, Himel V. The sealing ability of injection-molded thermoplasticized gutta-percha with and without the use of sealers. *J Endod.* 1987;13(7):315-7.

Slowey R. Root canal anatomy. Road map to successful endodontics. *Dent Clin North Am.* 1979;23(4):555-73.

Slutzky-Goldberg I, Slutzky H, Solomonov M, Moshonov J, Weiss E, Matalon S. Antibacterial properties of four endodontic sealers. *J Endod.* 2008;34(6):735-8.

Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* 2006;32(2):93-8.

Sundquist G. Associations between microbial species in dental root infections. *Oral Microbiol Immunol.* 1992;7:257-62.

Sundquist G, Johansson E, Sjogren U. Prevalence of black pigmented *Bacteroides* species in root canal infections. *J Endod.* 1989;15:13-9

Swanson K, Madison S. An evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth. Part I. Time periods. *J Endod.* 1987;13(2):56-9.

Sweatman T, Baumgartner J, Sakaguchi R. Radicular temperatures associated with thermoplasticized gutta-percha. *J Endod.* 2001;27(8):512-5.

Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru-Filho M, da Silva LA, Ito IY. Microbial distribution in the root canal system after periapical lesion induction using different methods. *Braz Dent J.* 2008;19(2):124-9.

Taşdemir T, Er K, Yildirim T, Buruk K, Celik D, Cora S, et al. Comparison of the sealing ability of three filling techniques in canals shaped with two different rotary systems: a bacterial leakage study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(3):e129-34.

Timpawat S, Amornchat C, Trisuwan W. Bacterial coronal leakage after obturation with three root canal sealers. *J Endod.* 2001;27(1):36-9.

Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(6):658-66.

Torabinejad M, Ung B, Kettering JD. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. *J Endod.* 1990;16(12):566-9.

Venturi M. An ex vivo evaluation of a gutta-percha filling technique when used with two endodontic sealers: analysis of the filling of main and lateral canals. *J Endod.* 2008;34(9):1105-10.

Versiani MA, Carvalho-Junior JR, Padilha MI, Lacey S, Pascon EA, Sousa-Neto MD. A comparative study of physicochemical properties of AH Plus and Epiphany root canal sealants. *Int Endod J.* 2006;39(6):464-71.

Vivan RR. **Avaliação de algumas propriedades físico químicas de cimentos retrobturadores.** 2009. 164 p. (Dissertação de Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru -Universidade de São Paulo, Bauru.

Wijnbergen M, Van Mullem PJ. Effect of histological decalcifying agents on number and stainability of gram-positive bacteria. *J Dent Res.* 1987;66(5):1029-31.

Williamson A, Marker K, Drake D, Dawson D, Walton R. Resin-based versus gutta-percha-based root canal obturation: influence on bacterial leakage in an in vitro model system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(2):292-6.

Wu MK, De Gee AJ, Wesselink PR, Moorer WR. Fluid transport and bacterial penetration along root canal fillings. *Int Endod J.* 1993;26(4):203-8.

Wu MK, Wesselink PR. Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. Methodology, application and relevance. *Int Endod J.* 1993;26(1):37-43.

Yücel A, Güler E, Güler A, Ertaş E. Bacterial penetration after obturation with four different root canal sealers. *J Endod.* 2006;32(9):890-3.

Zmener O, Pameijer C, Serrano S, Vidueira M, Macchi R. Significance of moist root canal dentin with the use of methacrylate-based endodontic sealers: an in vitro coronal dye leakage study. *J Endod.* 2008;34(1):76-9.

Anexos

ANEXO A: Número de espécimes que apresentaram infiltração bacteriana nos diferentes grupos experimentais em função dos dias de observação (60 dias).

| Dias | Grupos experimentais | | | | | | Total |
|-------------|-----------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| 1 | - | - | 2 | 4 | - | - | 6 |
| 2 | - | - | 1 | 1 | - | - | 2 |
| 3 | - | - | - | - | - | 1 | 1 |
| 17 | 1 | - | - | - | - | - | 1 |
| 25 | 1 | - | - | - | - | - | 1 |
| 27 | - | - | - | - | 1 | - | 1 |
| 30 | - | - | - | - | - | 1 | 1 |
| 37 | - | 1 | - | - | - | - | 1 |
| 38 | - | 1 | - | - | - | - | 1 |
| 41 | - | - | - | - | - | 1 | 1 |
| 44 | 1 | - | - | - | - | - | 1 |
| 46 | 1 | - | - | - | - | - | 1 |
| 49 | - | - | - | - | - | 1 | 1 |
| 50 | 1 | - | - | - | - | - | 1 |
| 51 | - | - | - | - | - | 2 | 2 |
| 58 | - | - | - | - | 1 | - | 1 |

ANEXO B: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (14)3235-8356
e-mail: mferrari@fob.usp.br

Processo nº 111/2009

Bauru, 27 de agosto de 2009.

Senhor Professor,

O projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, denominado "Avaliação *in vitro* da infiltração bacteriana em canais radiculares obturados com diferentes cimentos endodônticos pelas técnicas da condensação lateral e compactação vertical", de autoria de Thais Vieira Rizzo Nunes da Cunha, que será desenvolvido sob sua orientação, foi enviado ao relator para avaliação.

Na reunião de 26 de agosto de 2009 o parecer do relator, aprovando o projeto, foi aceito pelo Comitê, considerando que não existem infrações éticas pendentes.

Informamos que qualquer alteração efetuada no trabalho de pesquisa, o pesquisador/orientador deverá comunicar ao CEP-FOB/USP, bem como ao final do trabalho enviar um Relatório para novo parecer, o qual será utilizado para publicação científica.

Atenciosamente,

Prof.ª Dr.ª Maria Teresa Atta
Coordenadora

Prof. Dr. Ivaldo Gomes de Moraes

Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários

ANEXO C: Termo de doação de dentes humanos por Cirurgiões-Dentistas

**TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS
POR CIRURGIÕES –DENTISTAS****Identificação do Doador:**

Nome (Legível): Marina Angélica Marciano da Silva

Data de Nascimento: 22/07/1987 Local de Nascimento: Jaguariúna UF: SP

RG nº: 43726549-3 CPF nº: 36577965846

Endereço (Rua ou Avenida n.º e complemento): Av. Lauró de Carvalho, 939, Centro

Cidade: Jaguariúna UF: SP CEP: 13820-000

Telefones para contato: (19)38674379

E-mail: marisangelica_1@hotmail.com

DECLARAÇÃO

Declaro ter sido esclarecido sobre quais os motivos que levaram a necessidade de remoção do(s) dente(s) pré-molares inferiores - por razões ortodônticas - e concordo que os mesmos sejam utilizados na pesquisa de título "Avaliação in vitro da infiltração bacteriana em canais radiculares obturados com diferentes cimentos endodônticos pelas técnicas da condensação lateral e compactação vertical".

Fui ainda esclarecido pelo pesquisador que minha identidade não será divulgada por qualquer meio e que o material recolhido será utilizado unicamente para a presente pesquisa.

Bauró, 6 de julho de 2009

Marina A. M. S.
Assinatura *Marina Angélica M. da Silva*
Cirurgiã Dentista
CRO-SP 95344